

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
20 février 2003 (20.02.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 03/013599 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
A61K 39/215, C07K
14/165, C12N 15/50, 15/62, G01N 33/68

(FR). GONON, Valérie [FR/FR]; 110 bis rue de Chartres,
F-78610 LE PERRY EN YVELINES (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR02/02843

(74) Mandataire : CABINET ORES; 36, rue de St Péters-
bourg, F-75008 PARIS (FR).

(22) Date de dépôt international : 9 août 2002 (09.08.2002)

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,
SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0110644 9 août 2001 (09.08.2001) FR

(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), brevet
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposants (*pour tous les États désignés sauf US*) :
VIRBAC [FR/FR]; 1ère Avenue - 2065 M - L.I.D.,
F-06516 CARROS (FR). INSTITUT NATIONAL DE
LA RECHERCHE AGRONOMIQUE-INRA [FR/FR];
147 rue de l'Université, F-75341 Cedex 07 PARIS
(FR). ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE
MAISONS-ALFORT-ENVA [FR/FR]; 7 avenue du
Général de Gaulle, F-94704 MAISONS-ALFORT (FR).

Publiée :
— sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport

(72) Inventeurs; et
(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : AUBERT,
André [FR/FR]; 1000 Chemin des Rastines, F-06600 AN-
TIBES JUAN LES PINS (FR). DUQUESNE, Véronique
[FR/FR]; 27 rue Selves, F-06510 CARROS (FR). ELOIT,
Marc [FR/FR]; 49 avenue Joffre, F-94100 SAINT-MAUR

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: ANTI-CORONAVIRUS VACCINE

(54) Titre : VACCIN ANTI-CORONAVIRUS.

(57) Abstract: The invention relates to a vaccine against coronavirus infections and, in particular, against feline infectious peritonitis (FIP). The inventive vaccine comprises immunogenic peptides included in the S protein of feline coronaviruses (FCoV), which do not result from immunologic enhancement. The invention also relates to the use of at least one peptide for the preparation of a vaccine that induces protection against coronavirus infections, said peptide being selected from the group comprising fragments of an S protein of coronavirus of at least 12 amino acids, included in the SEQ ID NO:5, or nucleic acid fragments of at least 36 nucleotides, included in the SEQ ID NO:10 and coding for one of said peptides.

(57) Abrégé : Vaccin contre les infections à coronavirus, et notamment contre la péritonite infectieuse féline (PIF ou FIP pour feline infectious peritonitis), comprenant des peptides immunogènes inclus dans la protéine S des coronavirus félines (FCoV), qui n'induisent pas de phénomène de facilitation. Utilisation d'au moins un peptide sélectionné dans le groupe constitué par les fragments d'une protéine S de coronavirus d'au moins 12 acides aminés, compris dans la SEQ ID NO:5 ou par les fragments d'acide nucléique d'au moins 36 nucléotides, compris dans la SEQ ID NO:10 et codant pour l'un desdits peptides, pour la préparation d'un vaccin pour induire une protection contre des infections à coronavirus.

WO 03/013599 A2

VACCIN ANTI-CORONAVIRUS

La présente invention est relative à un vaccin contre les infections à coronavirus, et notamment contre la péritonite infectieuse féline (PIF ou FIP pour *feline infectious peritonitis*), comprenant des peptides immunogènes inclus dans la protéine S des coronavirus félins (FCoV), qui n'induisent pas de phénomène de facilitation.

La péritonite infectieuse féline est une maladie systémique, la plupart du temps mortelle, chez les chats sauvages et domestiques. L'agent responsable est un coronavirus, le virus de la péritonite infectieuse féline (VPIF ou FIPV pour *Feline Infectious Peritonitis Virus*), qui appartient au groupe antigénique qui comprend notamment le coronavirus entérique félin (FECV), le coronavirus canin (CCV), le coronavirus de la gastro-entérite transmissible de porc (TGEV), le coronavirus respiratoire porcin (PRCV) et le coronavirus humain (HCV) qui induit, d'une façon hôte-dépendante, un éventail de symptômes qui vont de l'entérite légère à la maladie débilitante grave, et dans certains cas, jusqu'à la mort.

Le coronavirus félin, comme d'autres coronavirus, est un virus à ARN monocaténaire, de polarité positive, d'approximativement 30 kilobases. Ce virus est enveloppé et comprend des structures péplomériques dénommées "Spike", spicules ou protéine S. L'extrémité 3' de l'ARN code notamment pour les protéines structurales suivantes :

- une protéine membranaire, également dénommée protéine de matrice (M). La protéine M est la glycoprotéine membranaire la plus abondante (25-30 kDa). Seulement 10 % de la partie N-terminale de la molécule est exposée à la surface du virion. Elle semble être importante pour la maturation virale des coronavirus et pour la détermination du site au niveau duquel les particules virales sont assemblées.

- une protéine de nucléocapside (N). La protéine N, qui est également une glycoprotéine (45-50 kDa), est la plus conservée parmi les protéines structurales des coronavirus et elle est nécessaire pour encapsider l'ARN génomique et en particulier pour diriger son incorporation dans la capside. Cette protéine est vraisemblablement impliquée dans la réplication de l'ARN.

- une autre protéine membranaire, la protéine sM (*small membrane*) est également connue sous le nom de protéine E (enveloppe) (environ 10 kDa). Il s'agit d'une protéine trans-membranaire qui, comme la protéine M, joue un rôle crucial en formant une matrice intégrale pour l'architecture sphérique du virion et son
5 bourgeonnement et

- la protéine S précitée, qui est également une protéine membranaire, qui se présente sous la forme de massues ou "Spike" ou encore spicules (S) et est également désignée sous le nom de protéine du péplomère. La protéine S est une glycoprotéine (200-220 kDa), dont une partie importante (spicules) est située à
10 l'extérieur de l'enveloppe virale. Elle est responsable de l'attachement du virus aux récepteurs de la cellule hôte (aminopeptidase N) et de l'induction de la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire.

Le FIPV, très proche morphologiquement et antigéniquement du FECV, se distingue de ce dernier en ce qu'il a acquis la capacité à se répliquer dans
15 les macrophages [Pedersen, 1995]. Dans la plupart des cas, les chats ayant développé des anticorps contre FCoV, développent une maladie plus grave et plus rapide, après l'épreuve virulente que les chats séronégatifs (absence d'anticorps anti-FCoV). Ce phénomène de facilitation est dû à la formation d'anticorps facilitant l'infection virale, dirigés contre la protéine S [Pedersen, 1980 ; Olsen et al., 1992] et dont l'action a un
20 effet délétère et contraire à celle des anticorps protecteurs, en formant des complexes immuns qui sont plus infectieux, particulièrement pour les macrophages ; ce phénomène, également dénommé ADE, pour "*antibody-dependant enhancement*", explique probablement, au moins en partie, la faible efficacité des vaccins comprenant la protéine S de coronavirus.

25 Dans un tel contexte, le développement d'un vaccin sûr et efficace contre les coronavirus félins est donc très problématique.

Or, la péritonite infectieuse féline (PIF) pose un problème important de santé vétérinaire ; en effet, les jeunes chats sont particulièrement sensibles à la PIF : 54 % de tous les cas de PIF concernent des chats ayant moins de 12 mois et
30 70 % concernent des chats de moins de 4 ans. Parmi ces chats infectés, les infections dues à des souches de coronavirus de type I semblent prédominantes, alors que les

infections de type II comptent respectivement pour 5 % et pour 20 à 30 % des cas de FIP aux États-Unis et au Japon [Pedersen et al., 1983; Hohdatsu et al., 1992].

Les deux sérotypes sont caractérisés sur la base de la neutralisation *in vitro*. Les sérums des chats atteints de FCoV de type I neutralisent d'autres FCoV de type I, mais pas les FCoV de type II et vice versa. On pense que les coronavirus félins de type II ont pour origine des événements de recombinaison d'ARN pendant lesquels le gène de la protéine S du coronavirus canin a été incorporé au génome des FCoV de type I [Herrewegh et al., 1998].

Selon les symptômes observés, deux formes de la maladie ont été décrites :

- une forme effusive ou humide, dans laquelle on observe une accumulation de liquide d'ascite, provoquée par une réponse inflammatoire intense et l'activation de la cascade du complément (augmentant la perméabilité vasculaire) [Pedersen, 1976 ; Pedersen, 1980] et
- une forme non-effusive ou sèche, qui se caractérise par peu ou pas d'accumulation de liquide d'ascite, mais dans laquelle on observe, généralement, des dépôts fibrineux granulaires sur différents organes (foie, rate, intestin, poumons). Les résultats d'analyses biochimiques et hématologiques montrent le plus souvent : une anémie, une neutrophilie, une lymphopénie, une augmentation des protéines totales du sérum et une hyperglobulinémie s'accompagnant d'une diminution du taux d'albumine.

En l'absence de traitements efficaces, différents vaccins anti-FIPV ont été proposés, qui mettent en œuvre des stratégies vaccinales distinctes, eu égard au nombre et au type des antigènes mis en œuvre et/ou au mode et à la forme d'expression et de présentation des antigènes.

On peut citer par exemple, les vaccins incorporant des virus inactivés entiers [Pedersen, 1983], des virus vivants atténués ou des virus hétérologues vivants (CCV, HCV-229E, TGEV), mais aussi des vaccins vectorisés basés sur les poxvirus, le virus de l'herpès félin (FHV) ou l'adénovirus, qui expriment la protéine S, M ou N ou des fragments simples de ces protéines, en combinaison ou en fusion avec d'autres protéines porteuses [Vennema et al., 1991 ; EP 652 287 ; WO 97/20054 ;

WO 97/20059 ; Woobs, R.D. et al., 1979 ; Stoddart, C.A. et al., 1988 ; Barlough, J.E. et al., 1985].

Toutefois, de tels vaccins, lorsqu'ils mettent en œuvre la protéine S, peuvent induire des phénomènes de facilitation par production d'anticorps facilitants, incompatibles avec l'établissement d'une protection efficace.

D'autres voies de recherche de vaccins ont donc été proposées, pour éliminer les anticorps facilitants et ainsi essayer d'induire une immunité humorale efficace.

Ce sont, pour la majorité, des vaccins recombinants sous-unitaires comportant, séparément ou en combinaison, au moins une protéine S, M ou N normale, recombinante ou modifiée ou au moins un peptide inclus dans l'une de ces protéines [WO 97/20054 ; WO 92/08487]. De manière plus précise :

- * l'antigène peut être constitué par une protéine S modifiée au niveau des sites ou des épitopes, spécifiquement associés à l'ADE, en partie N-terminale de la protéine S, c'est-à-dire, de manière plus spécifique : le site A1 (aa 562-598), le site A2 (aa 637-662) et éventuellement le site D [Corapi, W.V. et al., 1995 ; WO 95/07987 ; WO 96/06934 ; WO 95/07987 ; WO 93/23421] ; toutefois, cette stratégie a notamment l'inconvénient de reposer sur des mutations dont il est connu qu'elles risquent d'entraîner une perte de l'antigénicité de l'ensemble de la protéine S ;

- * l'antigène peut être constitué par une région hautement conservée ou UCD (pour *Universal Conserved Domain*), constituée par la partie C-terminale de 124 acides aminés (résidus de 1077 à 1276) de la protéine S [WO 92/08487 ; WO 93/23421]. La détermination d'une séquence universelle entre différents coronavirus montre effectivement le rôle important de cette dernière dans la structure de la protéine et de là, dans la structure du virus et/ou dans sa réplication. Toutefois, cela ne permet aucunement de prédire son activité immunoprotectrice ; toutefois, ce fragment peut induire la production d'anticorps facilitants.

Aussi, ces différentes stratégies peuvent induire une perte d'antigénicité.

Bien que les raisons exactes pour lesquelles certains des antigènes, apparemment prometteurs, donnent des efficacités relativement faibles, restent à déterminer, elles sont susceptibles d'être multifactorielles. Parmi les facteurs les plus

critiques, on trouve le type de l'antigène(s) ou de l'épitope(s). Si l'on considère un épitope approprié, l'immunité cellulaire est présumée être la clé effectrice de la protection (bien qu'il y ait quelques études qui démontrent que des réponses neutralisantes d'anticorps pourraient être la clé principale de la protection *in vivo*). D'autre part, l'antigène devrait être suffisamment immunogène et être capable de le rester en présence d'autres antigènes, compétiteurs ou interférents, comme par exemple d'autres protéines du coronavirus qui seraient nécessaires à la protection ou des antigènes provenant d'autres vaccins ou vaccins associés.

Si la force antigénique peut être améliorée et si la concurrence antigénique peut être surmontée par diverses méthodes, compositions ou combinaisons de celles-ci, la nature protectrice d'un antigène ou d'un épitope, qui sont inhérents à la séquence en acides aminés de l'épitope, demeure invariable, d'où la nécessité du choix judicieux du ou des antigène(s).

En conséquence, aucune des pistes de vaccins précédemment proposées ne présente l'ensemble des conditions requises, à savoir :

- l'obtention d'une immunité humorale protectrice *in vivo*
- l'absence de production d'anticorps facilitants et,
- l'absence de phénomènes de facilitation *in vivo*.

La Demanderesse s'est, en conséquence, donnée pour but la production d'un vaccin qui répond mieux aux besoins de la pratique, notamment en ce qu'il n'induit pas la formation d'anticorps délétères, tout en conservant la capacité à produire une réponse immune protectrice.

La Demanderesse a sélectionné des peptides compris dans la protéine S du coronavirus de la PIF, qui, de manière surprenante, permettent effectivement d'induire une immunité protectrice, sans induire de phénomènes de facilitation.

Pour obtenir un tel vaccin, la démarche qui consiste à rechercher les sites épitopiques que l'on peut généralement déduire par des méthodes basées sur de la modélisation par ordinateur ou par extrapolation de l'antigénicité de la protéine S, à partir d'autres espèces de coronavirus ou par un mélange des deux méthodes, permettant la localisation des séquences les « plus probables », ne permet pas de déduire quels sont les peptides qui ne possèdent pas de propriétés délétères.

La Demanderesse a, en conséquence, mis au point un système qui a permis de sélectionner des peptides compris dans la protéine S particulièrement performants.

La sélection de ces peptides est ainsi liée, de manière surprenante, à la résistance et/ou à la sensibilité des chats aux infections à coronavirus d'une part et à la régression ou à la progression de la PIF d'autre part.

En particulier, la Demanderesse a montré, de manière surprenante, que les peptides sélectionnés étaient reconnus spécifiquement par les sérums de chats spontanément régresseurs (SR).

La présente invention a ainsi pour objet l'utilisation d'au moins un peptide sélectionné dans le groupe constitué par les fragments d'une protéine S de coronavirus d'au moins 12 acides aminés, compris dans la SEQ ID NO:5, à l'exclusion des fragments inclus dans la séquence correspondant aux positions 175-298 de ladite SEQ ID NO :5 ou par les fragments d'acide nucléique d'au moins 36 nucléotides, compris dans la SEQ ID NO:10, à l'exclusion des fragments inclus dans la séquence correspondant aux positions 523-894 de ladite SEQ ID NO :10 et codant pour l'un desdits peptides, pour la préparation d'un vaccin pour induire une protection exclusivement neutralisante contre des infections à coronavirus et notamment pour protéger les chats contre la péritonite infectieuse féline (FIP).

Conformément à la dite utilisation, les dits fragments de protéine S comprennent entre 12 et 20 acides aminés.

Les données ci-après résument les correspondances entre les différentes séquences, pour plus de clarté :

- La SEQ ID NO :6 selon l'invention comprend 1452 acides aminés et correspond à la séquence complète de la protéine S de coronavirus de la souche FIPV 79-1146 ;

- La SEQ ID NO :5 selon l'invention comprend 365 acides aminés et correspond aux positions 940-1304 de la séquence SEQ ID NO :6 ;

- Le peptide de SEQ ID NO :2 selon l'invention comprend 21 acides aminés et correspond aux positions 1-21 de la SEQ ID NO :5 ou aux positions 940-960 de la SEQ ID NO :6 ;

- Le peptide de SEQ ID NO :3 selon l'invention comprend 59 acides aminés et correspond aux positions 15-73 de la SEQ ID NO :5 ou aux positions 954-1012 de la SEQ ID NO :6 ;

5 - Le peptide de SEQ ID NO :4 de 31 acides aminés correspond aux positions 335—365 de la SEQ ID NO :5 ou aux positions 1274-1304 de SEQ ID NO :6.

En référence aux SEQ ID NO :5 et NO :6 selon l'invention, le fragment C-terminal contenant le domaine universel (UCD) et le domaine universel UCD de 124 acides aminés, décrits dans la Demande Internationale WO 93/23421
10 correspondent aux positions suivantes des SEQ ID NO 5 et 6 :

fragments de wo 93/23421	Positions dans seq id no :5	positions dans seq id no:6
Fragment C-terminal de la protéine S (SEQ ID NO:1-12 de 199 ou 200 acides aminés	Positions 138-337	Positions 1077-1276
Fragment UCD de 124 acides aminés (positions 37-160 des SEQ ID NO :1-12)	Positions 175-298	Positions 1114-1237

La présente invention a également pour objet des peptides constitués par un fragment de protéine S de coronavirus, caractérisés en ce qu'ils n'induisent pas de phénomènes de facilitation, et en ce qu'ils sont obtenus à l'aide du procédé
15 comprenant au moins les étapes suivantes :

- la construction d'une banque aléatoire de peptides correspondant à un fragment de protéine de coronavirus, à partir d'au moins un génome viral de coronavirus,
- la mise en contact desdits peptides avec un sérum de chat spontanément régresseur (SR), après une infection par le coronavirus, et
20
- l'immuno-sélection des peptides interagissant avec lesdits sérums de chats spontanément régresseurs, mais interagissant peu ou même pas du tout avec

des sérums de chats présentant des symptômes cliniques (CS) ou de chats présentant des signes subcliniques de l'infection chronique (CI) avec le coronavirus.

Selon un mode de réalisation avantageux desdits peptides, ils sont sélectionnés dans le groupe constitué par le peptide SEQ ID NO:2, les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés de la séquence SEQ ID NO:2, le peptide SEQ ID NO:3, les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés de la séquence SEQ ID NO:3, le peptide SEQ ID NO:4 et les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés de la séquence SEQ ID NO:4.

Lesdits peptides sont inclus entre les acides aminés 940 et 1304 de la protéine S, en référence à la protéine S de SEQ ID NO:6 de la souche FIPV 79-1146 et sont donc sélectionnés dans le groupe constitué par le peptide 7I correspondant aux positions 940-960 (SEQ ID NO:2) de la protéine S de SEQ ID NO:6, les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:2, le peptide T12 correspondant aux positions 954-1012 (SEQ ID NO:3) de la protéine S de SEQ ID NO:6, les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:3, le peptide 14I correspondant aux positions 1274-1304 (SEQ ID NO:4) de la protéine S de SEQ ID NO:6 et les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:4. De manière surprenante, lesdits peptides :

- n'induisent pas de phénomènes de facilitation, et
- sont aptes à induire une immunité contre des infections à coronavirus, et notamment contre la péritonite infectieuse féline chez les chats.

Aucun des peptides selon l'invention, c'est-à-dire présentant les propriétés d'induction d'anticorps neutralisants et d'absence d'induction d'anticorps facilitants n'inclut le fragment correspondant aux positions 175-298 de la SEQ ID NO:5 ou 1114-1237 de la SEQ ID NO:6, qui peut induire la production d'anticorps facilitants.

En outre, les propriétés immunologiques desdits peptides sont corrélées avec les réactions immuno-protectrices dans un groupe de chats montrant une régression spontanée de l'infection à coronavirus.

Parmi lesdits peptides, le peptide T12 (SEQ ID NO:3) est particulièrement préféré.

L'invention comprend également les peptides, tels que définis ci-dessus, modifiés par des mutations artificielles, des délétions, des insertions, des variations ou des combinaisons de ces événements, à condition que les peptides ainsi modifiés n'induisent pas de phénomènes de facilitation.

5 L'invention inclut également les peptides tels que définis ci-dessus, sous forme de peptides de synthèse, de peptides répétés, de protéines fusionnées à l'extrémité N- ou C- terminale avec une protéine de coronavirus (tels que M, N, E) ou avec une protéine d'un autre agent pathogène félin (tels que FIV, FeLV, FHV, Calicivirus, Parvovirus, Bordetella, Chlamidia), porcin (tels que PCRV, parvovirus, rouget)
10 ou canin (tel que CPV, Carre, CPI, virus de la rage, virus A2/A1, Babesia, leptospire, Lyme).

La présente invention a également pour objet un vaccin pour induire une protection contre des infections à coronavirus et notamment pour protéger les chats contre la péritonite infectieuse féline (FIP), caractérisé en ce qu'il comprend au
15 moins un peptide tel que défini ci-dessus en combinaison avec des substances porteuses et/ou des adjuvants et/ou au moins un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Les adjuvants utilisés sont des adjuvants classiquement utilisés ; avantageusement, ils sont choisis dans le groupe constitué par des émulsions
20 huileuses, de la saponine, des substances minérales, des extraits bactériens, de l'hydroxyde d'alumine et le squalène.

Les substances porteuses sont avantageusement sélectionnées dans le groupe constitué par des liposomes unilamellaires, des liposomes multilamellaires, des micelles de saponine ou des microsphères solides de nature saccharidique ou auri-
25 fère.

Selon un mode de réalisation avantageux dudit vaccin, il comprend en outre d'autres peptides ou protéines virales appropriées.

La présente invention a également pour objet des molécules d'acide nucléique codant pour les différents peptides tels que définis ci-dessus.

30 De manière plus précise, lesdites molécules d'acide nucléique sont notamment sélectionnées dans le groupe constitué par les séquences SEQ ID NO:7-10 ainsi que les séquences nucléotidiques contenant de 36 à 60 nucléotides et dont la

séquence est contenue dans la SEQ ID NO:8 et les séquences nucléotidiques contenant de 36 à 60 nucléotides et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:9.

La présente invention a également pour objet l'utilisation desdites molécules d'acide nucléique pour la construction de vecteurs recombinants (virus ou
5 plasmides), utiles comme vaccins.

La présente invention a également pour objet des vecteurs recombinants, caractérisés en ce qu'ils comprennent une molécule d'acide nucléique, telle que définie ci-dessus.

De manière avantageuse, lesdits vecteurs sont, de préférence, sélectionnés dans le groupe constitué par des vecteurs viraux, tels que les poxvirus, les
10 adénovirus, les rétrovirus, les herpès virus, des vecteurs bactériens, tels que les mycobactéries, entérobactéries ou les lactobacilles et/ou des plasmides incluant une séquence codant pour au moins l'un des peptides tels que définis ci-dessus.

La présente invention a également pour objet un vaccin pour induire une protection contre des infections à coronavirus et notamment pour protéger
15 les chats contre la péritonite infectieuse féline (FIP), caractérisé en ce qu'il comprend au moins une molécule d'acide nucléique telle que définie ci-dessus ou un vecteur recombinant tel que défini ci-dessus.

Les peptides immunogènes de la protéine S, tels que définis ci-dessus ou les vecteurs recombinants exprimant lesdits peptides sont particulièrement
20 bien adaptés à la prophylaxie des maladies provoquées par les coronavirus, incluant en particulier le FIPV.

De manière avantageuse, lesdits peptides peuvent être obtenus par synthèse chimique ou par recombinaison de l'ADN correspondant dans une bactérie,
25 un virus, une levure ou un hôte eucaryote.

Les vaccins selon l'invention sont capables d'induire une réponse immune protectrice contre les maladies à coronavirus chez le chien (CCV) et/ou le porc (TGEV) et/ou l'homme.

Les vaccins selon l'invention sont avantageusement administrés par
30 voie systémique (intramusculaire, sous-cutané, intra-péritonéale ou intraveineuse) et/ou par voie locale (orale, nasale, autres voies muqueuses) ou par combinaison de

ces voies et induisent effectivement une réponse immune protectrice contre les coronavirus, notamment contre les coronavirus félins (FECV, FIPV).

La présente invention a également pour objet un procédé de sélection de peptides immunogènes correspondant à un fragment d'une protéine de coronavirus, et n'induisant pas de phénomènes de facilitation, caractérisé en ce qu'il comprend au moins les étapes suivantes :

- la construction d'une banque aléatoire de peptides correspondant à un fragment de protéine de coronavirus, à partir d'au moins un génome viral de coronavirus,
- la mise en contact desdits peptides avec au moins un sérum de chat spontanément régresseur (SR), après une infection par un coronavirus, et
- l'immuno-sélection des peptides interagissant avec ledit sérum de chat spontanément régresseur, mais interagissant peu ou même pas du tout avec des sérums de chats présentant des symptômes cliniques (CS) ou de chats présentant des signes subcliniques de l'infection chronique (CI) par un coronavirus.

De manière avantageuse, le procédé consiste en la sélection de peptides immunogènes correspondant à un fragment d'une protéine S de coronavirus, et n'induisant pas de phénomènes de facilitation, caractérisé en ce qu'il comprend au moins les étapes suivantes :

- la construction d'une banque aléatoire de peptides correspondant à un fragment de protéine S de coronavirus, à partir d'au moins un génome viral de FIPV,
- la mise en contact desdits peptides avec au moins quatre sérums différents de chats spontanément régresseurs (SR), après une infection par le FIPV, à une dilution d'au moins 1/1000^{ème} et
- l'immuno-sélection des peptides interagissant avec lesdits sérums de chats spontanément régresseurs, mais interagissant peu ou même pas du tout avec des sérums de chats présentant des symptômes cliniques (CS) ou des sérums de chats présentant des signes subcliniques de l'infection chronique (CI) avec FIPV.

Un tel procédé permet l'identification des épitopes qui sont spécifiquement corrélés avec des réponses en anticorps protectrices acquises chez les chats spontanément régresseurs (SR) par rapport aux réactions immunes non-protectrices

observées dans les groupes de chats présentant des symptômes cliniques (CS) ou des signes subcliniques de l'infection chronique (CI) avec FIPV [Gonon et al., 1999].

Dans un tel procédé :

- l'utilisation de quatre sérums constitue un protocole statistiquement acceptable ;
- la dilution sélectionnée permet d'atteindre à une spécificité que des dilutions inférieures ne permettraient pas d'obtenir (réactions croisées).

La présente invention a en outre pour objet un peptide constitué par un fragment de protéine S de coronavirus, caractérisé en ce qu'il est susceptible d'être sélectionné à l'aide du procédé de sélection tel que défini ci-dessus et ce qu'il est sélectionné dans le groupe constitué par le peptide SEQ ID NO:2, les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:2, le peptide SEQ ID NO:3, les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:3, le peptide SEQ ID NO:4 et les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:4.

Outre les dispositions qui précèdent, l'invention comprend encore d'autres dispositions, qui ressortiront de la description qui va suivre, qui se réfère à des exemples de mise en œuvre du procédé objet de la présente invention ainsi qu'au dessin annexé, dans lequel :

- les Figures 1A et 1B : ces figures illustrent la réactivité des peptides T12 et 7I, avec les différentes catégories de sérums suivantes : SR = chats spontanément régresseurs, CS = chats avec les signes cliniques, CI = chats chroniquement infectés, SPF = chats sans pathogènes spécifiques (contrôle). Des évaluations densitométriques de l'aire sous la courbe (AUC) dans les *Western blots* sont données en unités arbitraires. Les données représentent des valeurs moyennes (n) du nombre d'échantillons de sérums provenant des groupes respectifs de chats ; figure 1A : réponse en anticorps par rapport à T12 ; figure 1B : réponse en anticorps par rapport à 7I.

- la Figure 2 illustre les réponses en anticorps contre T12 avant l'épreuve par la souche de FIPV 79-1146. Les cinq chats vaccinés avec le vaccin T12

sont représentés avec les symboles "pleins" suivants ■, ▲, ●, +, ◆. Les cinq chats non vaccinés sont représentés avec les symboles "vides" suivants □, △, ○, +, ◇.

- la Figure 3 illustre les réponses en anticorps contre l'antigène viral (FIPV 79-1146) avant l'épreuve par FIPV79-1146. Les cinq chats vaccinés avec le vaccin T12 sont représentés avec les symboles "pleins" suivants ■, ▲, ●, +, ◆. Les cinq chats non vaccinés sont représentés avec les symboles "vides" suivants □, △, ○, +, ◇.

- la Figure 4 représente les réponses en anticorps dirigés contre l'antigène viral (FIPV 79-1146), après l'épreuve par FIPV souche 79-1146.

- la Figure 5 représente une évaluation dans le temps des signes cliniques, suivant l'épreuve avec FIPV 79-1146. Les chats SPF (5 par groupe) ont été vaccinés en sous-cutanée deux fois à un intervalle de trois semaines avec le vaccin de la sous-unité T12, alors que les chats contrôles (5 par groupe) recevaient le placebo de PBS. Les deux groupes de chats ont été infectés avec FIPV 79-1146 pendant six semaines après la deuxième vaccination et les signes cliniques ont été évalués hebdomadairement.

Il doit être bien entendu, toutefois, que ces exemples sont donnés uniquement à titre d'illustration de l'objet de l'invention, dont ils ne constituent en aucune manière une limitation.

Exemple 1 : Procédé de sélection des peptides selon l'invention.

- Caractéristiques des réponses immunologiques chez les chats infectés par un coronavirus

L'expérience a impliqué initialement 150 chats infectés par le coronavirus félin avec un historique connu ou inconnu des signes cliniques, puis a été réduite à 42 chats pendant la période expérimentale qui a duré plus d'une année, conduisant à la collecte de 133 échantillons de sérum appartenant aux catégories CS (42), CI (48), et SR (43). L'analyse par *Western-blot* des protéines virales M, N, et S, a montré que les trois catégories de sérums révélaient un schéma distinct de la réactivité antigénique (Tableau I).

Ces données montrent que la régression est corrélée à la réponse en anticorps anti-S ; en outre, on observe également un rapport anticorps anti-S/anticorps anti-M élevé. En revanche, la progression de la maladie ou de l'infection chronique se caractérise par un rapport anticorps anti-S/anti-M plus faible. Les données indiquent également que les réponses en anticorps contre des protéines M et également N sont généralement dominantes en comparaison avec les réponses contre la protéine S, et ont de faibles valeurs indicatives en ce qui concerne le statut de la maladie. Les données montrent également qu'il doit être techniquement possible de discerner l'épi-
 5 tope(s) protecteur(s) résidant dans la protéine S par *Western-blot* avec des antisérums de SR. Ces épitopes ne sont que très peu ou pas identifiés par des sérums de CS ou de CI.

Tableau I : Distribution des réponses immunes dirigées contre les différents composants protéiques du virus.

<i>Antigène</i> <i>Catégories</i>	<i>M</i>	<i>N</i>	<i>S</i>	<i>[S/M]</i> <i>(x 100)</i>
<i>SR</i>	35 %	37 %	20 %	57.1
<i>CS</i>	67 %	30 %	2 %	3.0
<i>CI</i>	59 %	35 %	2 %	3.4

15 - Identification de l'épitope(s) impliqué dans les réponses immunes protectrices.

En utilisant les antisérums obtenus à partir des chats SR, les épitopes appropriés ont été sélectionnés à l'aide d'une banque aléatoire de peptides, construite à partir du génome viral de FIPV, souche 79-1146 (transcrit et coupé par une DNase) ;
 20 les fragments obtenus sont introduits dans un système d'expression bactérien (NovaTope). Les fragments du gène S aléatoirement obtenus (50-150 paires de bases) ont été isolés par électrophorèse sur gel d'agarose et insérés dans le vecteur plasmidique (pSCREEN-1b) par la méthode de ligation des dA-dT.

Des cellules compétentes de *E. coli* (DE3) ont été alors transformées
 25 avec le vecteur de recombinaison, ayant pour résultat des transformants de l'ordre de 10^8 cfu/ μ g d'ADN.

L'immuno-sélection des colonies, effectuée sur des membranes NC (nitrocellulose) avec 4 sérums différents de SR à une dilution de 1/1000^{ème} a conduit à

la sélection d'au moins 20 clones candidats qui ont alors été soumis au séquençage de leur ADN.

Les alignements des séquences d'insertion avec la séquence d'ADN du gène S du FIPV 79-1146 [De Groot, R.J. et al., 1987] ont permis l'identification, entre autres, de trois peptides candidats respectivement appelés 7I (SEQ ID NO :2), T12 (SEQ ID NO :3) et 14I (SEQ ID NO : 4) (Tableau II).

Les deux peptides 7I et T12 partagent une région identique de sept acides aminés. La région C-terminale de la protéine S comportant les trois peptides est fortement conservée entre les sérotypes I et II des coronavirus félins et également parmi les coronavirus canins et porcins [Wesseling, J.G. et al., 1994]. Il est donc très probable que les peptides, s'ils sont immunogènes chez le chat, soient aussi immunogènes dans les pathologies canines, porcines et humaines.

Pour confirmer l'immuno-sélection positive obtenue et afin de caractériser les épitopes protecteurs, les deux peptides appelés 7I et T12 ont été exprimés par *E. coli*, sous la forme de protéines de fusion formant des corps d'inclusion, et extraits à partir du lysat de cellules en utilisant l'urée 8 M ; après une électrophorèse sur gel de polyacrylamide, lesdits peptides ont été transférés sur une membrane de nylon et incubés avec les différentes catégories de sérums immuns, tels que définis ci-dessus : SR, CS et CI.

Comme représenté sur la Figure 1 (A et B), les peptides 7I et T12 sont préférentiellement identifiés par des sérums SR, alors qu'ils le sont sensiblement moins par des sérums CS ou CI.

Tableau II : Identité des séquences des peptides préférentiellement identifiés par les sérums des chats SR (pour spontanément régresseurs).

SEQ.ID.	Nom	Taille (aa)	Séquence	Alignement (protéine S*)
N°2	7I	21	GGSWLGGLKDILPSH NSKRKY	940 – 960
N°3	T12	58	HNSKRKYGSAIEDLLFDKVVTSGLG TVDEYKRCCTGGYDIADLVCAQYYN GIMVLPGVA	954 – 1012
N°4	14I	31	MYQPRVATSSDFVQIEGCDVLFVNATVIDLP	1274- 1304

* Numéroté selon l'ordre de la séquence de 1452 acides aminés de la protéine S (SEQ ID NO:6) (MW = 160 491) de FIPV 79-1146 [De Groot, R.J. et al., 1987].

EXEMPLE 2 : Préparation de la composition vaccinale.

Une fois purifié ou partiellement purifié, T12 a été utilisé comme vaccin sous-unitaire dans une épreuve virulente réalisée sur des chats. Ce vaccin présente une efficacité protectrice, qui est significative, à partir de la deuxième semaine après l'épreuve virulente, en termes de morbidité, sévérité des symptômes de PIF et particulièrement en terme de mortalité.

Le peptide T12, exprimé dans le système d'induction IPTG de *E. coli*, sous la forme d'une protéine recombinante de fusion (MW ~34 kDa) contenant en C-terminal une étiquette His6, a été extrait à partir du lysat de cellules dans de l'urée 8 M et purifié sur une colonne de résine de Nickel (Qiagen). Le T12 purifié a été alors adsorbé sur hydroxyde d'aluminium (alhydrogel) et formulé dans un tampon phosphate (PBS, pH 7,2) ainsi qu'en présence de saponine (QS21), comme adjuvant.

Une dose vaccinale comporte, pour un volume de 1,0 ml, 100 µg de T12, 10% d'alhydrogel (v/v), et 20 µg de QS21, par chat.

EXEMPLE 3 : Etude d'une vaccination avec T12, suivie d'une épreuve virulente.

Dans un groupe de cinq chats SPF (HARLAN USA), âgés de 8 à 9 semaines, chaque animal a reçu deux injections par voie sous-cutanée, à un intervalle de trois semaines (W0 et W3). En parallèle, cinq chats témoins (SPF) reçoivent un placebo ne contenant aucune protéine.

Six semaines (W9) après la deuxième vaccination, les deux groupes de chats ont été infectés par voie oro-nasale (moitié par oral et l'autre moitié par nasal) avec 220 TCID₅₀ de la souche FIPV 79-1146. Les animaux ont été suivis toutes les semaines, pendant 8 semaines après l'épreuve, pour la détermination des titres en anticorps (anti-T12 et anti-FIPV) et les signes cliniques (morbidité, aspect des muqueuses, fluide péritonéal, poids, température, hématocrite, leucocytes et mortalité).

Les signes cliniques ont été mesurés selon le schéma décrit dans le Tableau III.

<i>Catégories</i>	<i>Signes</i>	<i>Score</i>	<i>Catégories</i>	<i>Signes</i>	<i>Score</i>
Comportement	Normal	0	Perte de poids	>20%	1
	Fatigué	1		>30%	2
	Très fatigué	2		>50%	3
	Prostré	3			
Aspect des Muqueuses	Normal	0	Température corporelle (°C)	39.4-39.9	1
	Jaune léger	1		40-40.5	2
	Jaune (citron)	2		>40.6	3
Liquide péritonéal	Absent	0	Hématocrite*	>25%	0
	Suspicion	1		25-20%	1
	Présent	2		<20%	2
Pertes d'Equilibre**		1	Nombre de leucocytes	Diminution de 50%	3
Lésions hépatiques*** (post-mortem)		1			

* Hématocrite normal de chat : de l'ordre de 25 à 45 %

5 ** Pertes d'équilibre : état psychomoteur de l'animal ; une perte d'équilibre indique une atteinte cérébrale.

*** Lésions hépatiques : présence de granulomes sur les lobes.

1. Réponses humérales observées avant l'épreuve :

10 * **Réponse anti-T12** : tous les animaux vaccinés ont développé une réponse élevée en anticorps anti-T12, atteignant le maximum (titre en Elisa > 100 000) à approximativement 3 semaines (W6) après la seconde vaccination et restant relativement stable tout au long de la période d'observation (jusqu'au jour de l'épreuve). En revanche, il n'est pas possible de détecter des anticorps anti-T12 (Figure 2) chez les chats témoins. Par analyse en *Western-Blot*, les sérums des chats vaccinés ont montré

15 qu'ils reconnaissaient la protéine virale S.

* **Réponse anti-virus** : les chats vaccinés avec le peptide T12 ont développé des réponses anti-FIPV avec des titres en anticorps (par ELISA) allant de

100 à 200 à W6, augmentant légèrement à W9, tandis qu'aucun des chats du groupe témoin n'a montré de réponses détectables (Figure 3).

2. Réponses humorales développées après l'épreuve virulente

* **Réponse anti-virus** : Quatre des cinq chats vaccinés ont répondu à l'épreuve par une élévation rapide du titre en anticorps anti-FIPV, atteignant 5 000 à 11 000 à 2 semaines (W11) post-infection. Deux des quatre chats répondants ont continué à développer des titres plus élevés à W12 et à W13 (d'environ 80 000) ; tandis qu'un chat est resté stable avec le titre de 5000 et l'autre a succombé à W12. L'animal n'ayant pas répondu, a montré des titres en anticorps qui diminuaient.

Quatre des cinq chats du groupe témoin ont également répondu à l'épreuve avec des réponses fortes en anticorps une à deux semaines plus tard que les chats vaccinés, les titres atteignant des niveaux de 80 000 à W12 et/ou à W13. Le chat non répondant s'est avéré transitoirement séropositif au point W11 avec un titre en anticorps de environ 100 (Figure 4).

3. Suivi des signes cliniques pendant l'épreuve :

Les animaux ont été surveillés chaque jour : les signes cliniques et des points ont été attribués pour chaque observation, sur l'échelle de 0 pour des valeurs normales à 3 pour des valeurs anormales et selon la sévérité (voir Tableau III). Comme le montre le Tableau IV, quatre des cinq chats vaccinés (ou 80 %) n'ont pas ou faiblement présenté de signes cliniques, tandis qu'un des chats développait les signes cliniques typiques de la PIF.

Contrairement au groupe vacciné, trois des cinq animaux du groupe témoin ont présenté les signes cliniques caractéristiques de la PIF menant jusqu'à la mort ; un animal a montré des symptômes relativement plus faible, tandis que le dernier (animal transitoirement séropositif à la deuxième semaine) n'a montré aucun signe clinique.

Ces données montrent que le vaccin sous-unitaire T12 est capable de conférer une protection aux chats infectés avec un coronavirus virulent (pas d'apparition d'anticorps facilitants).

Par l'évaluation de la mortalité, le vaccin a montré une efficacité de 80% de survie, comparée à 40% dans le groupe témoin. Parmi les survies, certains animaux vaccinés étaient complètement ou presque totalement exempts de

symptômes, tandis qu'un des deux chats témoins survivants a développé des symptômes faibles.

De plus, le suivi au cours du temps des signes cliniques suggère que la protection induite par le vaccin commence à apparaître à partir de la deuxième semaine (W11) post-infection (Figure 5).

Tableau IV : Scores totaux observés sur les six premières semaines d'infection .

<i>Numéro Chat</i>	<i>Température</i>	<i>Perte de poids</i>	<i>Nombre de leucocytes</i>	<i>Hématocrite</i>	<i>Symptôme (**)</i>	<i>Score Total(*)</i>
Vaccinés T12						
261	0	0	6	1	0	7
267	0	0	0	0	0	0
284	0	0	6	2	158	166*
302	0	0	6	0	0	6
314	0	0	0	0	0	0
Non vaccinés						
257	0	0	12	7	186	205*
265	0	0	0	0	0	0
277	1	1	6	3	159	170*
288	2	2	6	2	132	144*
298	1	0	9	0	29	39

* Chats morts avec des symptômes caractéristiques de la PIF à la 5^{ème} ou 6^{ème} semaine post-infection.

** Addition des scores observés pour le comportement, l'aspect des muqueuses, la présence de liquide péritonéal, la perte d'équilibre et les lésions hépatiques.

De manière générale, les valeurs des scores sont comprises entre 0 et 3 ; pour certains critères, on note simplement la présence (1) ou l'absence (0) du critère. Dans le tableau IV, les scores totaux sont une addition des scores qui ont été relevés chaque semaine, après l'épreuve. Un total de 7 correspond à la somme : W9=0, W10=1, W11=2, W12=2, W13=2, W14=0, (car le chat est mort).

Bibliographie

1. Addie, D.D. et al., (1992a) Vet.Rec. 130 :133. *A study of naturally occurring feline coronavirus infections in kittens.*

2. Addie, D.D. et al., (1992b) Vet.Rec. 131 :202. *Feline coronavirus antibodies in cats.*
3. Barlough, J.E. et al., (1985) Can.J.Comp.Med. 49:303-307. *Experimental inoculation of cats with human coronavirus 229E and subsequent challenge with feline infectious peritonitis virus.*
4. Corapi, W.V. et al., (1995) J.Virol. 69(5): 2858-2862. *Localization of antigenic sites of the S glycoprotein of Feline Infectious Peritonitis Virus involved in neutralization and antibody-dependent enhancement.*
5. De Groot, R.J. et al., (1987) J.Gen.Virol. 68:2639-2646. *cDNA cloning and sequence analysis of the gene encoding the peplomer protein of feline infectious peritonitis virus.*
6. Gonon, V. et al. (1999) J.Gen.Virol. 80 : 2315-2317. *Clearance of infection in cats naturally infected with feline coronaviruses is associated with an anti-S glycoprotein antibody response.*
7. Herrewegh, A.A.P.M. et al., (1998) J.Virol. 72 : 4508-4514. *Feline coronavirus type II strains 79-1683 and 79-1146 originate from a double recombinaison between feline coronavirus type I and canine coronavirus.*
8. Hohdatsu, T. et al., (1992) J.Vet.Med.Sci. 54 :557. *The prevalence of types I and II feline coronavirus infections in cats.*
9. Motokawa, K. et al., (1996). Microbiol. Immunol. 40:425-433. *Comparison of the amino acid sequence and phylogenetic analysis of the peplomer, integral membrane and nucleocapsid proteins of feline, canine and porcine coronaviruses.*
10. Olsen, C.W. et al., (1992) J.Virol. 66:956 - 965. *Monoclonal antibodies to the spike protein of feline infectious peritonitis virus mediate antibody-dependent enhancement of infection of feline macrophages.*
11. Pedersen, N.C. (1976) Feline Pract. 6 : 42. *Feline infectious peritonitis : Something old, something new.*
12. Pedersen, N.C. (1995) Feline Pract. 23:7-20. *An overview of feline enteric coronavirus and infectious peritonitis virus infections.*
13. Pedersen, N.C. (1988) In : N.C.Pedersen (Editor), Feline infectious diseases, American Veterinary Publications, Santa Barbara, CA, pp.45-59. *Feline infectious peritonitis.*
14. Pedersen, N.C. et al. (1983) Am.J.Vet .Res. 44 :229-234. *Attempted immunization of cats against feline infectious peritonitis, using avirulent live virus or sublethal amounts of virulent virus.*
15. Pedersen, N.C. et al. (1980) Am.J.Vet.Res. 41:868-876. *Immunologic phenomena in the effusive form of feline infectious peritonitis.*

16. Pedersen, N.C. et al. (1985) *Comp.Cont.Edu.* 7:1001-1011. *Experimental studies with three new strains of feline infectious peritonitis virus : FIPV-UCD2, FIPV-UCD3, and FIPV-UCD4.*
17. Pedersen, N.C. et al., (1983) In : *Molecular Biology and Pathogenesis of Coronaviruses*, Plenum Press, New York, pp.365-380. *Pathogenic differences between various feline coronavirus isolates.*
18. Poland, A.M. et al., (1996) *J.Clin.Microbiol.* 34 : 3180-3184. *Two related strains of feline infectious peritonitis virus isolated from immunocompromised cats infected with a feline enteric coronavirus.*
19. Stoddart, C.A. et al. (1988) *Res.Vet.Sci.* 45:383-388. *Attempted immunization of cats against feline infectious peritonitis using canine coronavirus.*
20. Vennema, H. et al., (1991) *Virology* 181: 327-335. *Primary structure of the membrane and nucleocapsid protein genes of feline infectious peritonitis virus and immunogenicity of recombinant vaccinia viruses in kittens.*
21. Vennema, H. et al. (1995) *Feline Pract.* 23 : 40-44. *A comparison of the genomes of FeCVs and FIPVs and what they tell us about the relationships between feline coronaviruses and their evolution.*
22. Wesseling, J.G. et al., (1994) *J.Gen.Virol.* 75 : 1789-1794. *Nucleotide sequence and expression of the spike (S) gene of canine coronavirus and comparison with the S proteins of feline and porcine coronaviruses.*
23. Woods, R.D. and Pedersen, N.C. (1979) *Vet.Microbiol.* 4:11-16. *Cross protection studies between feline infectious peritonitis and porcine transmissible gastro-enteritis.*

REVENDICATIONS

- 1°) Utilisation d'au moins un peptide sélectionné dans le groupe constitué par les fragments d'une protéine S de coronavirus d'au moins 12 acides aminés, compris dans la SEQ ID NO:5, à l'exclusion des fragments inclus dans la
5 séquence correspondant aux positions 175-298 ou par les fragments d'acide nucléique d'au moins 36 nucléotides, compris dans la SEQ ID NO:10, à l'exclusion des fragments inclus dans la séquence correspondant aux positions 523-894 et codant pour l'un desdits peptides, pour la préparation d'un vaccin pour induire une protection exclusivement neutralisante contre des infections à coronavirus.
- 10 2°) Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que lesdits fragments de protéine S comprennent entre 12 et 20 acides aminés.
- 3°) Utilisation selon la revendication 1 ou la revendication 2, pour la préparation d'un vaccin pour protéger les chats contre la péritonite infectieuse féline (FIP).
- 15 4°) Peptides constitués par un fragment de protéine S de coronavirus, caractérisés en ce qu'ils n'induisent pas de phénomènes de facilitation, et en ce qu'ils sont obtenus à l'aide du procédé comprenant au moins les étapes suivantes :
- la construction d'une banque aléatoire de peptides correspondant à un fragment de protéine de coronavirus, à partir d'au moins un génome viral de coronavirus,
20 navirus,
 - la mise en contact desdits peptides avec un sérum de chat spontanément régresseur (SR), après une infection par le coronavirus, et
 - l'immuno-sélection des peptides interagissant avec lesdits sérums de chats spontanément régresseurs, mais interagissant peu ou même pas du tout avec
25 des sérums de chats présentant des symptômes cliniques (CS) ou de chats présentant des signes subcliniques de l'infection chronique (CI) avec le coronavirus.
- 5°) Peptide selon la revendication 4, caractérisé en ce qu'il est sélectionné dans le groupe constitué par le peptide SEQ ID NO:2, les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:2,
30 le peptide SEQ ID NO:3, les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:3, le peptide SEQ ID NO:4 et les peptides

contenant de 12 à 20 acides aminés et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:4.

6°) Peptides modifiés, caractérisés en ce qu'ils correspondent à des peptides selon la revendication 4 ou la revendication 5, dans lesquels ont été introduites des mutations artificielles, des délétions, des insertions, des variations ou des combinaisons de ces événements, à condition que les peptides ainsi modifiés n'induisent pas de phénomènes de facilitation.

7°) Peptides selon l'une quelconque des revendications 4 à 6, caractérisés en ce qu'ils se présentent sous forme de peptides de synthèse, de peptides répétés ou de protéines fusionnées à l'extrémité N- ou C-terminale avec une protéine d'un autre agent pathogène félin, porcine ou canine.

8°) Vaccin pour induire une protection contre des infections à coronavirus, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un peptide selon l'une quelconque des revendications 4 à 7, en combinaison avec des substances porteuses et/ou des adjuvants et/ou au moins un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

9°) Vaccin pour protéger les chats contre la péritonite infectieuse féline (FIP), caractérisé en ce qu'il comprend au moins un peptide selon l'une quelconque des revendications 4 à 7, en combinaison avec des substances porteuses et/ou des adjuvants et/ou au moins un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

10°) Vaccin selon la revendication 8 ou la revendication 9, caractérisé en ce que lesdits adjuvants sont sélectionnés dans le groupe constitué par des émulsions huileuses, de la saponine, des substances minérales, des extraits bactériens, de l'hydroxyde d'alumine et le squalène.

11°) Vaccin selon l'une quelconque des revendications 8 à 10, caractérisé en ce que les substances porteuses sont sélectionnées dans le groupe constitué par des liposomes unilamellaires, des liposomes multilamellaires, des micelles de saponine ou des microsphères solides de nature saccharidique ou aurifère.

12°) Vaccin selon l'une quelconque des revendications 8 à 11, caractérisé en ce qu'il comprend en outre d'autres peptides ou protéines virales.

13°) Molécule d'acide nucléique codant pour un peptide selon l'une quelconque des revendications 4 à 7.

14°) Molécule d'acide nucléique selon la revendication 13, caracté-
risée en ce qu'elle est sélectionnée dans le groupe constitué par les séquences SEQ ID
NO :7-10 ainsi que les séquences nucléotidiques contenant de 36 à 60 nucléotides et
dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO :8 et les séquences nucléotidiques
5 : contenant de 36 à 60 nucléotides et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID
NO :9.

15°) Utilisation d'au moins une molécule d'acide nucléique selon les
revendications 13 ou 14 pour la construction de vecteurs recombinants, utiles comme
vaccins.

10 16°) Vecteurs recombinants, caractérisés en ce qu'ils comprennent
une molécule d'acide nucléique selon les revendications 13 ou 14.

17°) Vecteurs selon la revendication 16, caractérisés en ce qu'ils
sont sélectionnés dans le groupe constitué par des vecteurs viraux, tels que les pox-
virus, les adénovirus, les rétrovirus, les herpès virus, des vecteurs bactériens, tels que
15 les mycobactéries, entérobactéries ou les lactobacilles et/ou des plasmides incluant
une séquence codant pour au moins l'un des peptides selon l'une quelconque des
revendications 4 à 7.

18°) Vaccin pour induire une protection contre des infections à
coronavirus, caractérisé en ce qu'il comprend au moins une molécule d'acide
20 nucléique selon la revendication 13 ou la revendication 14 ou un vecteur recombinant
selon la revendication 16 ou la revendication 17.

19°) Vaccin pour protéger les chats contre la péritonite infectieuse
féline (FIP), caractérisé en ce qu'il comprend au moins une molécule d'acide
nucléique selon la revendication 13 ou la revendication 14 ou un vecteur recombinant
25 selon la revendication 16 ou la revendication 17.

20°) Procédé de sélection de peptides immunogènes correspondant à
un fragment d'une protéine de coronavirus, et n'induisant pas de phénomènes de faci-
litation, caractérisé en ce qu'il comprend au moins les étapes suivantes :

- la construction d'une banque aléatoire de peptides correspondant à
30 un fragment de protéine de coronavirus, à partir d'au moins un génome viral de coro-
navirus,

- la mise en contact desdits peptides avec un sérum de chat spontanément régresseur (SR), après une infection par le coronavirus, et

- l'immuno-sélection des peptides interagissant avec lesdits sérums de chats spontanément régresseurs, mais interagissant peu ou même pas du tout avec des sérums de chats présentant des symptômes cliniques (CS) ou de chats présentant des signes subcliniques de l'infection chronique (CI) avec le coronavirus.

21°) Procédé de sélection de peptides immunogènes correspondant à un fragment d'une protéine S de coronavirus, et n'induisant pas de phénomènes de facilitation, caractérisé en ce qu'il comprend au moins les étapes suivantes :

10 - la construction d'une banque aléatoire de peptides correspondant à un fragment de protéine S de coronavirus, à partir d'au moins un génome viral de FIPV,

- la mise en contact desdits peptides avec au moins quatre sérums différents de chats spontanément régresseurs (SR), après une infection par le FIPV, à une dilution d'au moins 1/1000^{ème} et

- l'immuno-sélection des peptides interagissant avec lesdits sérums de chats spontanément régresseurs, mais interagissant peu ou même pas du tout avec des sérums de chats présentant des symptômes cliniques (CS) ou des sérums de chats présentant des signes subcliniques de l'infection chronique (CI) avec FIPV.

20 22°) Vaccin selon l'une quelconque des revendications 8 à 12, 18 et 19 capable d'induire une réponse immune protectrice contre les maladies à coronavirus chez le chien (CCV) et/ou le porc (TGEV) et/ou l'homme.

23°) Peptide constitué par un fragment de protéine S de coronavirus, caractérisé en ce qu'il est susceptible d'être sélectionné à l'aide du procédé de sélection selon la revendication 20 et ce qu'il est sélectionné dans le groupe constitué par le peptide SEQ ID NO:2, les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:2, le peptide SEQ ID NO:3, les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:3, le peptide SEQ ID NO:4 et les peptides contenant de 12 à 20 acides aminés et dont la séquence est contenue dans la SEQ ID NO:4.

1/3

Figure 1A:

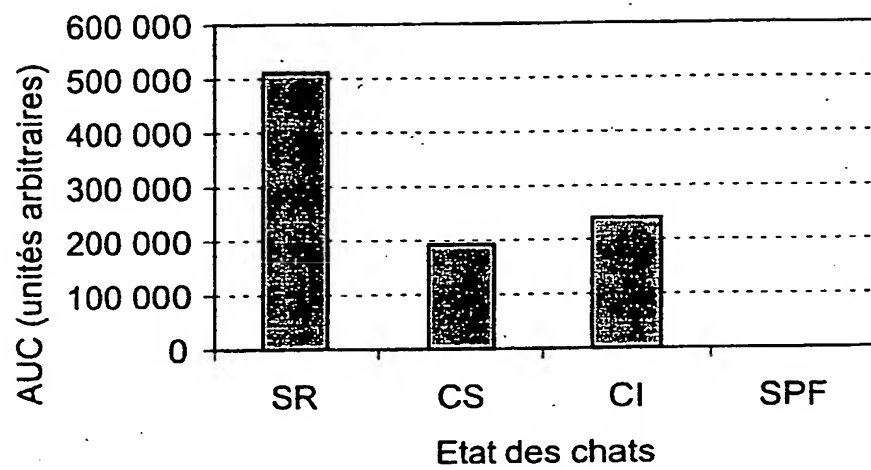


Figure 1B:

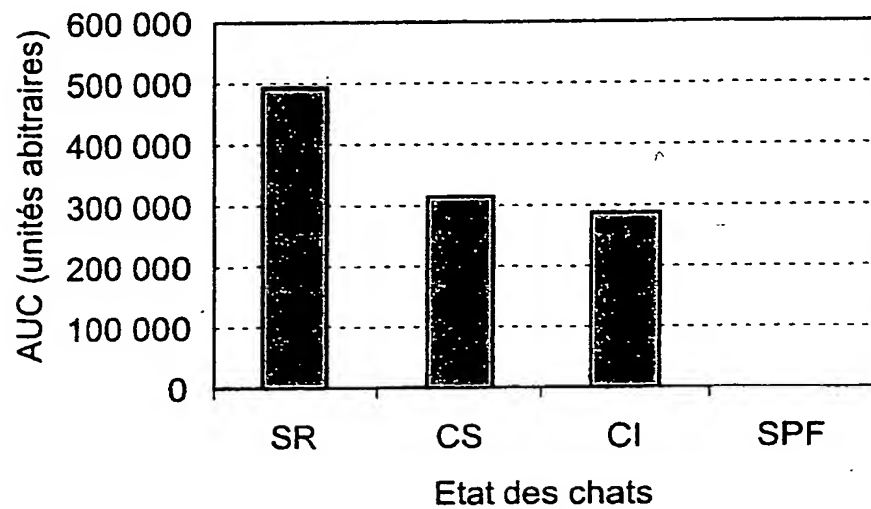


Figure 2

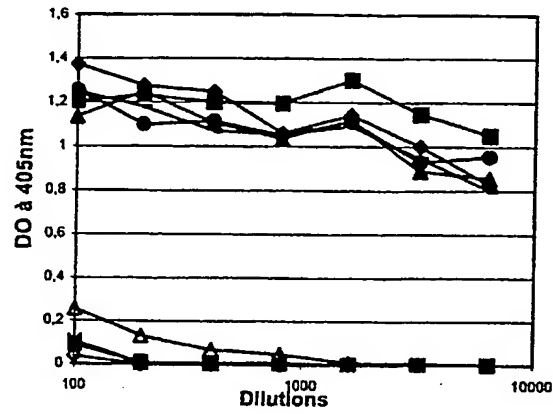
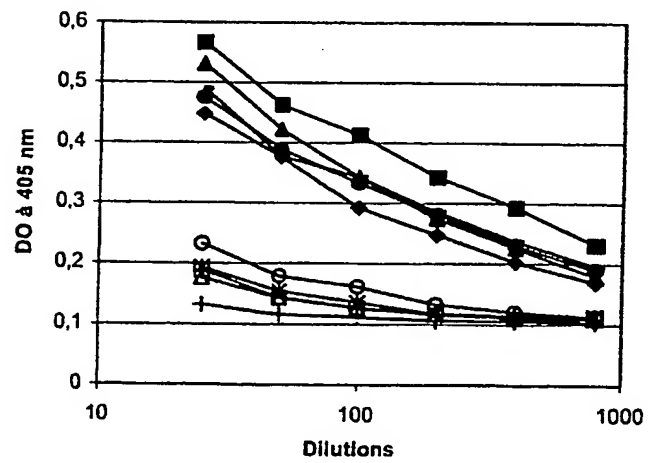


Figure 3

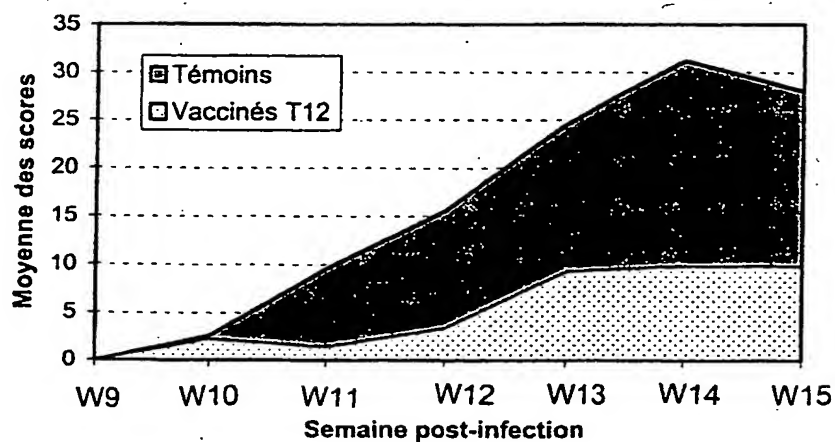


3/3

Figure 4

Groupe	Chats	W9	W10	W11	W12
Vacciné T12	261	100	800	15625	> 78125
	267	400	400	125	125
	284	200	800	15625	mort
	302	200	800	> 78125	> 78125
	314	200	800	3125	3125
Témoin	257	0	0	3125	15625
	265	0	0	125	0
	277	0	50	15625	> 78125
	288	0	400	15625	> 78125
	298	0	200	15625	> 78125

Figure 5



LISTE DE SEQUENCES

<110> VIRBAC
 INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE-INRA
 ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE MAISONS-ALFORT-ENVA
 AUBERT André
 DUQUESNE Véronique
 ELOIT Marc
 GONON Valérie

<120> VACCIN ANTI-CORONAVIRUS

<130> 004cas70FR

<140>
 <141>

<160> 10

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1
 <211> 4500
 <212> ADN
 <213> coronavirus de la péritonite infectieuse féline (protéine S)

<220>
 <221> CDS
 <222> (70)..(4428)

<400> 1
 gaagggtgaag ttactcatta gaaataatgg caagctacta aactttggta atcatttagt 60
 taatgtgcc atg att gtg ctc gta act tgc ctc ttg ttg tta tgt tca tac 111
 Met Ile Val Leu Val Thr Cys Leu Leu Leu Cys Ser Tyr
 1 5 10

cac aca gtt ttg agt aca aca aat aat gaa tgc ata caa gtt aac gta 159
 His Thr Val Leu Ser Thr Thr Asn Asn Glu Cys Ile Gln Val Asn Val
 15 20 25 30

aca caa ttg gct ggc aat gaa aac ctt atc aga gat ttt ctg ttt agt 207
 Thr Gln Leu Ala Gly Asn Glu Asn Leu Ile Arg Asp Phe Leu Phe Ser
 35 40 45

aac ttt aaa gaa gaa gga agt gta gtt gtt ggt ggt tat tac cct aca 255
 Asn Phe Lys Glu Glu Gly Ser Val Val Val Gly Gly Tyr Tyr Pro Thr
 50 55 60

gag gtg tgg tac aac tgc tct aga aca gct cga act act gcc ttt cag 303
 Glu Val Trp Tyr Asn Cys Ser Arg Thr Ala Arg Thr Thr Ala Phe Gln
 65 70 75

tat ttt aat aat ata cat gcc ttt tat ttt gtt atg gaa gcc atg gaa 351
 Tyr Phe Asn Asn Ile His Ala Phe Tyr Phe Val Met Glu Ala Met Glu
 80 85 90

aat agc act ggt aat gca cgt ggt aaa cca tta tta ttt cat gtg cat	399
Asn Ser Thr Gly Asn Ala Arg Gly Lys Pro Leu Leu Phe His Val His	
95 100 105 110	
ggt gag cct gtt agt gtt att ata tcg gct tat agg gat gat gtg caa	447
Gly Glu Pro Val Ser Val Ile Ile Ser Ala Tyr Arg Asp Asp Val Gln	
115 120 125	
caa agg ccc ctt tta aaa cat ggg tta gtg tgc ata act aaa aat cgc	495
Gln Arg Pro Leu Leu Lys His Gly Leu Val Cys Ile Thr Lys Asn Arg	
130 135 140	
cat att aac tat gaa caa ttc acc tcc aac cag tgg aat tcc aca tgt	543
His Ile Asn Tyr Glu Gln Phe Thr Ser Asn Gln Trp Asn Ser Thr Cys	
145 150 155	
acg ggt gct gac aga aaa att cct ttc tct gtc ata ccc acg gac aat	591
Thr Gly Ala Asp Arg Lys Ile Pro Phe Ser Val Ile Pro Thr Asp Asn	
160 165 170	
gga aca aaa atc tat ggt ctt gag tgg aat gat gac ttt gtt aca gct	639
Gly Thr Lys Ile Tyr Gly Leu Glu Trp Asn Asp Asp Phe Val Thr Ala	
175 180 185 190	
tat att agt ggt cgt tct tat cac ttg aac atc aat act aat tgg ttt	687
Tyr Ile Ser Gly Arg Ser Tyr His Leu Asn Ile Asn Thr Asn Trp Phe	
195 200 205	
aac aat gtc aca ctt ttg tat tca cgc tca agc act gct acc tgg gaa	735
Asn Asn Val Thr Leu Leu Tyr Ser Arg Ser Ser Thr Ala Thr Trp Glu	
210 215 220	
tac agt gct gca tat gct tac caa ggt gtt tct aac ttc act tat tac	783
Tyr Ser Ala Ala Tyr Ala Tyr Gln Gly Val Ser Asn Phe Thr Tyr Tyr	
225 230 235	
aag tta aat aac acc aat ggt cta aaa acc tat gaa tta tgt gaa gat	831
Lys Leu Asn Asn Thr Asn Gly Leu Lys Thr Tyr Glu Leu Cys Glu Asp	
240 245 250	
tat gaa cat tgc act ggc tat gct acc aat gta ttt gct ccg aca tca	879
Tyr Glu His Cys Thr Gly Tyr Ala Thr Asn Val Phe Ala Pro Thr Ser	
255 260 265 270	
ggt ggt tac ata cct gat gga ttt agt ttt aac aat tgg ttc ttg ctt	927
Gly Gly Tyr Ile Pro Asp Gly Phe Ser Phe Asn Asn Trp Phe Leu Leu	
275 280 285	
aca aat agt tcc act ttt gtt agt ggc agg ttt gta aca aat caa cca	975
Thr Asn Ser Ser Thr Phe Val Ser Gly Arg Phe Val Thr Asn Gln Pro	
290 295 300	
tta ttg att aat tgc ttg tgg cca gtg ccc agt ttt ggt gta gca gca	1023
Leu Leu Ile Asn Cys Leu Trp Pro Val Pro Ser Phe Gly Val Ala Ala	
305 310 315	

caa gaa ttt tgt ttt gaa ggt gca cag ttt agc caa tgt aat ggt gtg	1071
Gln Glu Phe Cys Phe Glu Gly Ala Gln Phe Ser Gln Cys Asn Gly Val	
320 325 330	
tct tta aat aac aca gtg gat gtt att aga ttc aac ctt aat ttc act	1119
Ser Leu Asn Asn Thr Val Asp Val Ile Arg Phe Asn Leu Asn Phe Thr	
335 340 345 350	
gca gat gta caa tct ggt atg ggt gct aca gta ttt tca ctg aat aca	1167
Ala Asp Val Gln Ser Gly Met Gly Ala Thr Val Phe Ser Leu Asn Thr	
355 360 365	
aca ggt ggt gtc att ctt gaa att tca tgt tat agt gac aca gtg agt	1215
Thr Gly Gly Val Ile Leu Glu Ile Ser Cys Tyr Ser Asp Thr Val Ser	
370 375 380	
gag tct agt tct tac agt tat ggt gaa atc ccg ttc ggc ata act gac	1263
Glu Ser Ser Ser Tyr Ser Tyr Gly Glu Ile Pro Phe Gly Ile Thr Asp	
385 390 395	
gga cca cga tac tgt tat gta ctt tac aat ggc aca gct ctt aaa tat	1311
Gly Pro Arg Tyr Cys Tyr Val Leu Tyr Asn Gly Thr Ala Leu Lys Tyr	
400 405 410	
tta gga aca tta cca ccc agt gta aag gaa att gct att agt aag tgg	1359
Leu Gly Thr Leu Pro Pro Ser Val Lys Glu Ile Ala Ile Ser Lys Trp	
415 420 425 430	
ggc cat ttt tat att aat ggt tac aat ttc ttt agc aca ttt cct att	1407
Gly His Phe Tyr Ile Asn Gly Tyr Asn Phe Phe Ser Thr Phe Pro Ile	
435 440 445	
ggt tgt ata tct ttt aat tta acc act ggt gtt agt gga gct ttt tgg	1455
Gly Cys Ile Ser Phe Asn Leu Thr Thr Gly Val Ser Gly Ala Phe Trp	
450 455 460	
aca att gct tac aca tcg tat act gaa gca tta gta caa gtt gaa aac	1503
Thr Ile Ala Tyr Thr Ser Tyr Thr Glu Ala Leu Val Gln Val Glu Asn	
465 470 475	
aca gct att aaa aat gtg acg tat tgt aac agt cac att aat aac att	1551
Thr Ala Ile Lys Asn Val Thr Tyr Cys Asn Ser His Ile Asn Asn Ile	
480 485 490	
aaa tgt tct caa ctt act gct aat ttg aat aat gga ttt tat cct gtt	1599
Lys Cys Ser Gln Leu Thr Ala Asn Leu Asn Asn Gly Phe Tyr Pro Val	
495 500 505 510	
gct tca agt gaa gta ggt ttc gtt aat aag agt gtt gtg tta tta cct	1647
Ala Ser Ser Glu Val Gly Phe Val Asn Lys Ser Val Val Leu Leu Pro	
515 520 525	
agc ttt ttc aca tac acc gct gtc aat ata acc att gat ctt ggt atg	1695
Ser Phe Phe Thr Tyr Thr Ala Val Asn Ile Thr Ile Asp Leu Gly Met	
530 535 540	

aag ctt agt ggt tat ggt caa ccc ata gcc tcg aca cta agt aac atc	1743
Lys Leu Ser Gly Tyr Gly Gln Pro Ile Ala Ser Thr Leu Ser Asn Ile	
545 550 555	
aca cta cca atg cag gat aac aat act gat gtg tac tgt att cgt tct	1791
Thr Leu Pro Met Gln Asp Asn Asn Thr Asp Val Tyr Cys Ile Arg Ser	
560 565 570	
aac caa ttc tca gtt tat gtt cat tcc act tgc aaa agt tct tta tgg	1839
Asn Gln Phe Ser Val Tyr Val His Ser Thr Cys Lys Ser Ser Leu Trp	
575 580 585 590	
gac aat att ttt aat caa gac tgc acg gat gtt tta gag gct aca gct	1887
Asp Asn Ile Phe Asn Gln Asp Cys Thr Asp Val Leu Glu Ala Thr Ala	
595 600 605	
gtt ata aaa act ggt act tgt cct ttc tca ttt gat aaa ttg aac aat	1935
Val Ile Lys Thr Gly Thr Cys Pro Phe Ser Phe Asp Lys Leu Asn Asn	
610 615 620	
tac ttg act ttt aac aag ttc tgt ttg tcg ttg agt cct gtt ggt gct	1983
Tyr Leu Thr Phe Asn Lys Phe Cys Leu Ser Leu Ser Pro Val Gly Ala	
625 630 635	
aat tgc aag ttt gat gtt gct gca cgt aca aga acc aat gag cag gtt	2031
Asn Cys Lys Phe Asp Val Ala Ala Arg Thr Arg Thr Asn Glu Gln Val	
640 645 650	
gtt aga agt cta tat gta ata tat gaa gaa gga gac aac ata gtg ggt	2079
Val Arg Ser Leu Tyr Val Ile Tyr Glu Glu Gly Asp Asn Ile Val Gly	
655 660 665 670	
gta ccg tct gat aat agc ggt ctg cac gat ttg tct gtg cta cac cta	2127
Val Pro Ser Asp Asn Ser Gly Leu His Asp Leu Ser Val Leu His Leu	
675 680 685	
gac tcc tgt aca gat tac aat ata tat ggt aga act ggt gtt ggt att	2175
Asp Ser Cys Thr Asp Tyr Asn Ile Tyr Gly Arg Thr Gly Val Gly Ile	
690 695 700	
att aga cga act aac agt acg cta ctt agt ggc tta tat tac aca tca	2223
Ile Arg Arg Thr Asn Ser Thr Leu Leu Ser Gly Leu Tyr Tyr Thr Ser	
705 710 715	
cta tca ggt gat ttg tta ggc ttt aaa aat gtt agt gat ggt gtc att	2271
Leu Ser Gly Asp Leu Leu Gly Phe Lys Asn Val Ser Asp Gly Val Ile	
720 725 730	
tat tct gtg acg cca tgt gat gta agc gca caa gcg gct gtt att gat	2319
Tyr Ser Val Thr Pro Cys Asp Val Ser Ala Gln Ala Ala Val Ile Asp	
735 740 745 750	
ggt gcc ata gtt gga gct atg act tcc att aac agt gaa ctg tta ggt	2367
Gly Ala Ile Val Gly Ala Met Thr Ser Ile Asn Ser Glu Leu Leu Gly	
755 760 765	

cta aca cat tgg aca acg aca cct aat ttt tat tac tac tct ata tat	2415
Leu Thr His Trp Thr Thr Thr Pro Asn Phe Tyr Tyr Tyr Ser Ile Tyr	
770 775 780	
aat tac aca agt gag agg act cgt ggc act gca att gac agt aac gat	2463
Asn Tyr Thr Ser Glu Arg Thr Arg Gly Thr Ala Ile Asp Ser Asn Asp	
785 790 795	
gtt gat tgt gaa cct gtc ata acc tat tct aat ata ggt gtt tgt aaa	2511
Val Asp Cys Glu Pro Val Ile Thr Tyr Ser Asn Ile Gly Val Cys Lys	
800 805 810	
aat ggt gct ttg gtt ttt att aac gtc aca cat tct gac gga gac gtg	2559
Asn Gly Ala Leu Val Phe Ile Asn Val Thr His Ser Asp Gly Asp Val	
815 820 825 830	
caa cca att agc act ggt aat gtc acg ata cct aca aat ttt act ata	2607
Gln Pro Ile Ser Thr Gly Asn Val Thr Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile	
835 840 845	
tct gtg caa gtt gaa tac atg cag gtt tac act aca cca gta tca ata	2655
Ser Val Gln Val Glu Tyr Met Gln Val Tyr Thr Thr Pro Val Ser Ile	
850 855 860	
gat tgt gca aga tac gtt tgt aat ggt aac cct aga tgt aac aaa ttg	2703
Asp Cys Ala Arg Tyr Val Cys Asn Gly Asn Pro Arg Cys Asn Lys Leu	
865 870 875	
tta aca caa tat gtg tct gca tgt caa act att gaa caa gca ctt gca	2751
Leu Thr Gln Tyr Val Ser Ala Cys Gln Thr Ile Glu Gln Ala Leu Ala	
880 885 890	
atg ggt gcc aga ctt gaa aac atg gag gtt gat tcc atg ttg ttt gtc	2799
Met Gly Ala Arg Leu Glu Asn Met Glu Val Asp Ser Met Leu Phe Val	
895 900 905 910	
tgc gaa aat gcc ctt aaa ttg gca tct gtt gag gcg ttc aat agt aca	2847
Ser Glu Asn Ala Leu Lys Leu Ala Ser Val Glu Ala Phe Asn Ser Thr	
915 920 925	
gaa aat tta gat cct att tac aaa gaa tgg cct agc ata ggt ggt tct	2895
Glu Asn Leu Asp Pro Ile Tyr Lys Glu Trp Pro Ser Ile Gly Gly Ser	
930 935 940	
tgg cta gga ggt cta aaa gat ata cta ccg tcc cat aat agc aaa cgt	2943
Trp Leu Gly Gly Leu Lys Asp Ile Leu Pro Ser His Asn Ser Lys Arg	
945 950 955	
aag tat ggt tct gct ata gaa gat ttg ctt ttt gat aaa gtt gta aca	2991
Lys Tyr Gly Ser Ala Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asp Lys Val Val Thr	
960 965 970	
tct ggt tta ggt aca gtt gat gaa gat tat aaa cgt tgt act ggt ggt	3039
Ser Gly Leu Gly Thr Val Asp Glu Asp Tyr Lys Arg Cys Thr Gly Gly	
975 980 985 990	

tac gac ata gca gac ttg gtg tgt gct caa tat tac aat ggc atc atg	3087
Tyr Asp Ile Ala Asp Leu Val Cys Ala Gln Tyr Tyr Asn Gly Ile Met	
995 1000 1005	
ggt cta cca ggt gta gct aat gct gac aag atg act atg tac aca gca	3135
Val Leu Pro Gly Val Ala Asn Ala Asp Lys Met Thr Met Tyr Thr Ala	
1010 1015 1020	
tca ctt gca ggt ggt ata aca tta ggt gca ctt ggt ggt ggc gcc gtg	3183
Ser Leu Ala Gly Gly Ile Thr Leu Gly Ala Leu Gly Gly Gly Ala Val	
1025 1030 1035	
gct ata cct ttt gca gta gca gta cag gct aga ctt aat tat gtt gct	3231
Ala Ile Pro Phe Ala Val Ala Val Gln Ala Arg Leu Asn Tyr Val Ala	
1040 1045 1050	
cta caa act gat gta ttg aat aaa aac caa cag atc ctg gct aat gct	3279
Leu Gln Thr Asp Val Leu Asn Lys Asn Gln Gln Ile Leu Ala Asn Ala	
1055 1060 1065 1070	
ttc aat caa gct att ggt aac att aca cag gct ttt ggt aag gtt aat	3327
Phe Asn Gln Ala Ile Gly Asn Ile Thr Gln Ala Phe Gly Lys Val Asn	
1075 1080 1085	
gat gct ata cat caa aca tca caa ggt ctt gcc act gtt gct aaa gcg	3375
Asp Ala Ile His Gln Thr Ser Gln Gly Leu Ala Thr Val Ala Lys Ala	
1090 1095 1100	
ttg gca aaa gtg caa gat gtt gtc aac aca caa ggg caa gct tta agt	3423
Leu Ala Lys Val Gln Asp Val Val Asn Thr Gln Gly Gln Ala Leu Ser	
1105 1110 1115	
cac ctt aca gta caa ttg caa aat aat ttt caa gcc att agt agt tct	3471
His Leu Thr Val Gln Leu Gln Asn Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser	
1120 1125 1130	
att agt gat att tat aac agg ctt gac gaa ctg agt gct gat gca caa	3519
Ile Ser Asp Ile Tyr Asn Arg Leu Asp Glu Leu Ser Ala Asp Ala Gln	
1135 1140 1145 1150	
ggt gat agg ctg att aca ggt aga ctt aca gca ctt aat gca ttt gtg	3567
Val Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Thr Ala Leu Asn Ala Phe Val	
1155 1160 1165	
tct cag act cta acc aga caa gca gag gtt agg gct agt aga caa ctt	3615
Ser Gln Thr Leu Thr Arg Gln Ala Glu Val Arg Ala Ser Arg Gln Leu	
1170 1175 1180	
gcc aaa gac aag gtt aat gaa tgt gtt agg tct cag tct cag aga ttc	3663
Ala Lys Asp Lys Val Asn Glu Cys Val Arg Ser Gln Ser Gln Arg Phe	
1185 1190 1195	
gga ttc tgt ggt aat ggt aca cat ttg ttt tca cta gca aat gca gca	3711
Gly Phe Cys Gly Asn Gly Thr His Leu Phe Ser Leu Ala Asn Ala Ala	
1200 1205 1210	

cca aat ggc atg att ttc ttt cat aca gta cta tta cca aca gct tat 3759
Pro Asn Gly Met Ile Phe Phe His Thr Val Leu Leu Pro Thr Ala Tyr
1215 1220 1225 1230

gaa act gta aca gct tgg tca ggt att tgt gct tca gat ggc gat cgc 3807
Glu Thr Val Thr Ala Trp Ser Gly Ile Cys Ala Ser Asp Gly Asp Arg
1235 1240 1245

act ttc gga ctt gtc gtt aaa gat gtg cag ttg acg ttg ttt cgt aat 3855
Thr Phe Gly Leu Val Val Lys Asp Val Gln Leu Thr Leu Phe Arg Asn
1250 1255 1260

cta gat gac aag ttc tat ttg acc ccc aga act atg tat cag cct aga 3903
Leu Asp Asp Lys Phe Tyr Leu Thr Pro Arg Thr Met Tyr Gln Pro Arg
1265 1270 1275

gtt gca act agt tct gat ttt gtt caa att gaa ggg tgt gat gtg ttg 3951
Val Ala Thr Ser Ser Asp Phe Val Gln Ile Glu Gly Cys Asp Val Leu
1280 1285 1290

ttt gtc aac gcg act gta att gat ttg cct agt att ata cct gac tat 3999
Phe Val Asn Ala Thr Val Ile Asp Leu Pro Ser Ile Ile Pro Asp Tyr
1295 1300 1305 1310

att gac att aat caa act gtt caa gac ata tta gaa aat tac aga cca 4047
Ile Asp Ile Asn Gln Thr Val Gln Asp Ile Leu Glu Asn Tyr Arg Pro
1315 1320 1325

aac tgg act gta cct gaa ttt aca ctt gat att ttc aac gca acc tat 4095
Asn Trp Thr Val Pro Glu Phe Thr Leu Asp Ile Phe Asn Ala Thr Tyr
1330 1335 1340

tta aat ctg act ggt gaa att gat gac tta gag ttt agg tca gaa aag 4143
Leu Asn Leu Thr Gly Glu Ile Asp Asp Leu Glu Phe Arg Ser Glu Lys
1345 1350 1355

cta cat aac act aca gta gaa ctt gcc att ctc att gat aac att aat 4191
Leu His Asn Thr Thr Val Glu Leu Ala Ile Leu Ile Asp Asn Ile Asn
1360 1365 1370

aat aca tta gtc aat ctt gaa tgg ctc aat aga att gaa act tat gta 4239
Asn Thr Leu Val Asn Leu Glu Trp Leu Asn Arg Ile Glu Thr Tyr Val
1375 1380 1385 1390

aaa tgg cct tgg tat gtg tgg cta ctg ata ggt tta gta gta gta ttt 4287
Lys Trp Pro Trp Tyr Val Trp Leu Leu Ile Gly Leu Val Val Val Phe
1395 1400 1405

tgc ata cca tta ctg cta ttt tgc tgt ttt agc aca ggt tgt tgt gga 4335
Cys Ile Pro Leu Leu Leu Phe Cys Cys Phe Ser Thr Gly Cys Cys Gly
1410 1415 1420

tgc ata ggt tgt tta gga agt tgt tgt cac tct ata tgt agt aga aga 4383
Cys Ile Gly Cys Leu Gly Ser Cys Cys His Ser Ile Cys Ser Arg Arg
1425 1430 1435

caa ttt gaa aat tat gaa cca att gaa aaa gtg cat gtc cac taa 4428
 Gln Phe Glu Asn Tyr Glu Pro Ile Glu Lys Val His Val His
 1440 1445 1450

atttaaagtt aaggatgttg aataaattcc ttaagaacta aacttattag tcattacagg 4488
 tcttgatgg ac 4500

<210> 2
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> coronavirus de la péritonite infectieuse féline (protéine S)

<400> 2
 Gly Gly Ser Trp Leu Gly Gly Leu Lys Asp Ile Leu Pro Ser His Asn
 1 5 10 15
 Ser Lys Arg Lys Tyr
 20

<210> 3
 <211> 59
 <212> PRT
 <213> coronavirus de la péritonite infectieuse féline (protéine S)

<400> 3
 His Asn Ser Lys Arg Lys Tyr Gly Ser Ala Ile Glu Asp Leu Leu Phe
 1 5 10 15
 Asp Lys Val Val Thr Ser Gly Leu Gly Thr Val Asp Glu Asp Tyr Lys
 20 25 30
 Arg Cys Thr Gly Gly Tyr Asp Ile Ala Asp Leu Val Cys Ala Gln Tyr
 35 40 45
 Tyr Asn Gly Ile Met Val Leu Pro Gly Val Ala
 50 55

<210> 4
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> coronavirus de la péritonite infectieuse féline (protéine S)

<400> 4
 Met Tyr Gln Pro Arg Val Ala Thr Ser Ser Asp Phe Val Gln Ile Glu
 1 5 10 15
 Gly Cys Asp Val Leu Phe Val Asn Ala Thr Val Ile Asp Leu Pro
 20 25 30

<210> 5

<211> 365

<212> PRT

<213> coronavirus de la péritonite infectieuse féline (protéine S)

<400> 5

Gly Gly Ser Trp Leu Gly Gly Leu Lys Asp Ile Leu Pro Ser His Asn
 1 5 10 15

Ser Lys Arg Lys Tyr Gly Ser Ala Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asp Lys
 20 25 30

Val Val Thr Ser Gly Leu Gly Thr Val Asp Glu Asp Tyr Lys Arg Cys
 35 40 45

Thr Gly Gly Tyr Asp Ile Ala Asp Leu Val Cys Ala Gln Tyr Tyr Asn
 50 55 60

Gly Ile Met Val Leu Pro Gly Val Ala Asn Ala Asp Lys Met Thr Met
 65 70 75 80

Tyr Thr Ala Ser Leu Ala Gly Gly Ile Thr Leu Gly Ala Leu Gly Gly
 85 90 95

Gly Ala Val Ala Ile Pro Phe Ala Val Ala Val Gln Ala Arg Leu Asn
 100 105 110

Tyr Val Ala Leu Gln Thr Asp Val Leu Asn Lys Asn Gln Gln Ile Leu
 115 120 125

Ala Asn Ala Phe Asn Gln Ala Ile Gly Asn Ile Thr Gln Ala Phe Gly
 130 135 140

Lys Val Asn Asp Ala Ile His Gln Thr Ser Gln Gly Leu Ala Thr Val
 145 150 155 160

Ala Lys Ala Leu Ala Lys Val Gln Asp Val Val Asn Thr Gln Gly Gln
 165 170 175

Ala Leu Ser His Leu Thr Val Gln Leu Gln Asn Asn Phe Gln Ala Ile
 180 185 190

Ser Ser Ser Ile Ser Asp Ile Tyr Asn Arg Leu Asp Glu Leu Ser Ala
 195 200 205

Asp Ala Gln Val Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Thr Ala Leu Asn
 210 215 220

Ala Phe Val Ser Gln Thr Leu Thr Arg Gln Ala Glu Val Arg Ala Ser
 225 230 235 240

Arg Gln Leu Ala Lys Asp Lys Val Asn Glu Cys Val Arg Ser Gln Ser
 245 250 255

Gln Arg Phe Gly Phe Cys Gly Asn Gly Thr His Leu Phe Ser Leu Ala
 260 265 270

10

Asn Ala Ala Pro Asn Gly Met Ile Phe Phe His Thr Val Leu Leu Pro
 275 280 285
 Thr Ala Tyr Glu Thr Val Thr Ala Trp Ser Gly Ile Cys Ala Ser Asp
 290 295 300
 Gly Asp Arg Thr Phe Gly Leu Val Val Lys Asp Val Gln Leu Thr Leu
 305 310 315 320
 Phe Arg Asn Leu Asp Asp Lys Phe Tyr Leu Thr Pro Arg Thr Met Tyr
 325 330 335
 Gln Pro Arg Val Ala Thr Ser Ser Asp Phe Val Gln Ile Glu Gly Cys
 340 345 350
 Asp Val Leu Phe Val Asn Ala Thr Val Ile Asp Leu Pro
 355 360 365

<210> 6

<211> 1452

<212> PRT

<213> coronavirus de la péritonite infectieuse féline (protéine S)

<400> 6

Met Ile Val Leu Val Thr Cys Leu Leu Leu Cys Ser Tyr His Thr
 1 5 10 15
 Val Leu Ser Thr Thr Asn Asn Glu Cys Ile Gln Val Asn Val Thr Gln
 20 25 30
 Leu Ala Gly Asn Glu Asn Leu Ile Arg Asp Phe Leu Phe Ser Asn Phe
 35 40 45
 Lys Glu Glu Gly Ser Val Val Val Gly Gly Tyr Tyr Pro Thr Glu Val
 50 55 60
 Trp Tyr Asn Cys Ser Arg Thr Ala Arg Thr Thr Ala Phe Gln Tyr Phe
 65 70 75 80
 Asn Asn Ile His Ala Phe Tyr Phe Val Met Glu Ala Met Glu Asn Ser
 85 90 95
 Thr Gly Asn Ala Arg Gly Lys Pro Leu Leu Phe His Val His Gly Glu
 100 105 110
 Pro Val Ser Val Ile Ile Ser Ala Tyr Arg Asp Asp Val Gln Gln Arg
 115 120 125
 Pro Leu Leu Lys His Gly Leu Val Cys Ile Thr Lys Asn Arg His Ile
 130 135 140
 Asn Tyr Glu Gln Phe Thr Ser Asn Gln Trp Asn Ser Thr Cys Thr Gly
 145 150 155 160
 Ala Asp Arg Lys Ile Pro Phe Ser Val Ile Pro Thr Asp Asn Gly Thr
 165 170 175

Lys Ile Tyr Gly Leu Glu Trp Asn Asp Asp Phe Val Thr Ala Tyr Ile
 180 185 190
 Ser Gly Arg Ser Tyr His Leu Asn Ile Asn Thr Asn Trp Phe Asn Asn
 195 200 205
 Val Thr Leu Leu Tyr Ser Arg Ser Ser Thr Ala Thr Trp Glu Tyr Ser
 210 215 220
 Ala Ala Tyr Ala Tyr Gln Gly Val Ser Asn Phe Thr Tyr Tyr Lys Leu
 225 230 235 240
 Asn Asn Thr Asn Gly Leu Lys Thr Tyr Glu Leu Cys Glu Asp Tyr Glu
 245 250 255
 His Cys Thr Gly Tyr Ala Thr Asn Val Phe Ala Pro Thr Ser Gly Gly
 260 265 270
 Tyr Ile Pro Asp Gly Phe Ser Phe Asn Asn Trp Phe Leu Leu Thr Asn
 275 280 285
 Ser Ser Thr Phe Val Ser Gly Arg Phe Val Thr Asn Gln Pro Leu Leu
 290 295 300
 Ile Asn Cys Leu Trp Pro Val Pro Ser Phe Gly Val Ala Ala Gln Glu
 305 310 315 320
 Phe Cys Phe Glu Gly Ala Gln Phe Ser Gln Cys Asn Gly Val Ser Leu
 325 330 335
 Asn Asn Thr Val Asp Val Ile Arg Phe Asn Leu Asn Phe Thr Ala Asp
 340 345 350
 Val Gln Ser Gly Met Gly Ala Thr Val Phe Ser Leu Asn Thr Thr Gly
 355 360 365
 Gly Val Ile Leu Glu Ile Ser Cys Tyr Ser Asp Thr Val Ser Glu Ser
 370 375 380
 Ser Ser Tyr Ser Tyr Gly Glu Ile Pro Phe Gly Ile Thr Asp Gly Pro
 385 390 395 400
 Arg Tyr Cys Tyr Val Leu Tyr Asn Gly Thr Ala Leu Lys Tyr Leu Gly
 405 410 415
 Thr Leu Pro Pro Ser Val Lys Glu Ile Ala Ile Ser Lys Trp Gly His
 420 425 430
 Phe Tyr Ile Asn Gly Tyr Asn Phe Phe Ser Thr Phe Pro Ile Gly Cys
 435 440 445
 Ile Ser Phe Asn Leu Thr Thr Gly Val Ser Gly Ala Phe Trp Thr Ile
 450 455 460
 Ala Tyr Thr Ser Tyr Thr Glu Ala Leu Val Gln Val Glu Asn Thr Ala
 465 470 475 480

Ile Lys Asn Val Thr Tyr Cys Asn Ser His Ile Asn Asn Ile Lys Cys
 485 490 495
 Ser Gln Leu Thr Ala Asn Leu Asn Asn Gly Phe Tyr Pro Val Ala Ser
 500 505 510
 Ser Glu Val Gly Phe Val Asn Lys Ser Val Val Leu Leu Pro Ser Phe
 515 520 525
 Phe Thr Tyr Thr Ala Val Asn Ile Thr Ile Asp Leu Gly Met Lys Leu
 530 535 540
 Ser Gly Tyr Gly Gln Pro Ile Ala Ser Thr Leu Ser Asn Ile Thr Leu
 545 550 555 560
 Pro Met Gln Asp Asn Asn Thr Asp Val Tyr Cys Ile Arg Ser Asn Gln
 565 570 575
 Phe Ser Val Tyr Val His Ser Thr Cys Lys Ser Ser Leu Trp Asp Asn
 580 585 590
 Ile Phe Asn Gln Asp Cys Thr Asp Val Leu Glu Ala Thr Ala Val Ile
 595 600 605
 Lys Thr Gly Thr Cys Pro Phe Ser Phe Asp Lys Leu Asn Asn Tyr Leu
 610 615 620
 Thr Phe Asn Lys Phe Cys Leu Ser Leu Ser Pro Val Gly Ala Asn Cys
 625 630 635 640
 Lys Phe Asp Val Ala Ala Arg Thr Arg Thr Asn Glu Gln Val Val Arg
 645 650 655
 Ser Leu Tyr Val Ile Tyr Glu Glu Gly Asp Asn Ile Val Gly Val Pro
 660 665 670
 Ser Asp Asn Ser Gly Leu His Asp Leu Ser Val Leu His Leu Asp Ser
 675 680 685
 Cys Thr Asp Tyr Asn Ile Tyr Gly Arg Thr Gly Val Gly Ile Ile Arg
 690 695 700
 Arg Thr Asn Ser Thr Leu Leu Ser Gly Leu Tyr Tyr Thr Ser Leu Ser
 705 710 715 720
 Gly Asp Leu Leu Gly Phe Lys Asn Val Ser Asp Gly Val Ile Tyr Ser
 725 730 735
 Val Thr Pro Cys Asp Val Ser Ala Gln Ala Ala Val Ile Asp Gly Ala
 740 745 750
 Ile Val Gly Ala Met Thr Ser Ile Asn Ser Glu Leu Leu Gly Leu Thr
 755 760 765
 His Trp Thr Thr Thr Pro Asn Phe Tyr Tyr Tyr Ser Ile Tyr Asn Tyr
 770 775 780

Thr Ser Glu Arg Thr Arg Gly Thr Ala Ile Asp Ser Asn Asp Val Asp
 785 790 795 800
 Cys Glu Pro Val Ile Thr Tyr Ser Asn Ile Gly Val Cys Lys Asn Gly
 805 810 815
 Ala Leu Val Phe Ile Asn Val Thr His Ser Asp Gly Asp Val Gln Pro
 820 825 830
 Ile Ser Thr Gly Asn Val Thr Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile Ser Val
 835 840 845
 Gln Val Glu Tyr Met Gln Val Tyr Thr Thr Pro Val Ser Ile Asp Cys
 850 855 860
 Ala Arg Tyr Val Cys Asn Gly Asn Pro Arg Cys Asn Lys Leu Leu Thr
 865 870 875 880
 Gln Tyr Val Ser Ala Cys Gln Thr Ile Glu Gln Ala Leu Ala Met Gly
 885 890 895
 Ala Arg Leu Glu Asn Met Glu Val Asp Ser Met Leu Phe Val Ser Glu
 900 905 910
 Asn Ala Leu Lys Leu Ala Ser Val Glu Ala Phe Asn Ser Thr Glu Asn
 915 920 925
 Leu Asp Pro Ile Tyr Lys Glu Trp Pro Ser Ile Gly Gly Ser Trp Leu
 930 935 940
 Gly Gly Leu Lys Asp Ile Leu Pro Ser His Asn Ser Lys Arg Lys Tyr
 945 950 955 960
 Gly Ser Ala Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asp Lys Val Val Thr Ser Gly
 965 970 975
 Leu Gly Thr Val Asp Glu Asp Tyr Lys Arg Cys Thr Gly Gly Tyr Asp
 980 985 990
 Ile Ala Asp Leu Val Cys Ala Gln Tyr Tyr Asn Gly Ile Met Val Leu
 995 1000 1005
 Pro Gly Val Ala Asn Ala Asp Lys Met Thr Met Tyr Thr Ala Ser Leu
 1010 1015 1020
 Ala Gly Gly Ile Thr Leu Gly Ala Leu Gly Gly Gly Ala Val Ala Ile
 1025 1030 1035 1040
 Pro Phe Ala Val Ala Val Gln Ala Arg Leu Asn Tyr Val Ala Leu Gln
 1045 1050 1055
 Thr Asp Val Leu Asn Lys Asn Gln Gln Ile Leu Ala Asn Ala Phe Asn
 1060 1065 1070
 Gln Ala Ile Gly Asn Ile Thr Gln Ala Phe Gly Lys Val Asn Asp Ala
 1075 1080 1085

Ile His Gln Thr Ser Gln Gly Leu Ala Thr Val Ala Lys Ala Leu Ala
 1090 1095 1100
 Lys Val Gln Asp Val Val Asn Thr Gln Gly Gln Ala Leu Ser His Leu
 105 1110 1115 1120
 Thr Val Gln Leu Gln Asn Asn Phe Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile Ser
 1125 1130 1135
 Asp Ile Tyr Asn Arg Leu Asp Glu Leu Ser Ala Asp Ala Gln Val Asp
 1140 1145 1150
 Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Thr Ala Leu Asn Ala Phe Val Ser Gln
 1155 1160 1165
 Thr Leu Thr Arg Gln Ala Glu Val Arg Ala Ser Arg Gln Leu Ala Lys
 1170 1175 1180
 Asp Lys Val Asn Glu Cys Val Arg Ser Gln Ser Gln Arg Phe Gly Phe
 185 1190 1195 1200
 Cys Gly Asn Gly Thr His Leu Phe Ser Leu Ala Asn Ala Ala Pro Asn
 1205 1210 1215
 Gly Met Ile Phe Phe His Thr Val Leu Leu Pro Thr Ala Tyr Glu Thr
 1220 1225 1230
 Val Thr Ala Trp Ser Gly Ile Cys Ala Ser Asp Gly Asp Arg Thr Phe
 1235 1240 1245
 Gly Leu Val Val Lys Asp Val Gln Leu Thr Leu Phe Arg Asn Leu Asp
 1250 1255 1260
 Asp Lys Phe Tyr Leu Thr Pro Arg Thr Met Tyr Gln Pro Arg Val Ala
 265 1270 1275 1280
 Thr Ser Ser Asp Phe Val Gln Ile Glu Gly Cys Asp Val Leu Phe Val
 1285 1290 1295
 Asn Ala Thr Val Ile Asp Leu Pro Ser Ile Ile Pro Asp Tyr Ile Asp
 1300 1305 1310
 Ile Asn Gln Thr Val Gln Asp Ile Leu Glu Asn Tyr Arg Pro Asn Trp
 1315 1320 1325
 Thr Val Pro Glu Phe Thr Leu Asp Ile Phe Asn Ala Thr Tyr Leu Asn
 1330 1335 1340
 Leu Thr Gly Glu Ile Asp Asp Leu Glu Phe Arg Ser Glu Lys Leu His
 345 1350 1355 1360
 Asn Thr Thr Val Glu Leu Ala Ile Leu Ile Asp Asn Ile Asn Asn Thr
 1365 1370 1375
 Leu Val Asn Leu Glu Trp Leu Asn Arg Ile Glu Thr Tyr Val Lys Trp
 1380 1385 1390

15

Pro Trp Tyr Val Trp Leu Leu Ile Gly Leu Val Val Val Phe Cys Ile
 1395 1400 1405

Pro Leu Leu Leu Phe Cys Cys Phe Ser Thr Gly Cys Cys Gly Cys Ile
 1410 1415 1420

Gly Cys Leu Gly Ser Cys Cys His Ser Ile Cys Ser Arg Arg Gln Phe
 425 1430 1435 1440

Glu Asn Tyr Glu Pro Ile Glu Lys Val His Val His
 1445 1450

<210> 7

<211> 63

<212> ADN

<213> coronavirus de la péritonite infectieuse féline (protéine S)

<400> 7

ggtaggttctt ggctaggagg tctaaaagat atactaccgt ccataatag caaacgtaag 60
 tat 63

<210> 8

<211> 177

<212> ADN

<213> coronavirus de la péritonite infectieuse féline (protéine S)

<400> 8

cataatagca aacgtaagta tggttctgct atagaagatt tgctttttga taaagttgta 60
 acatctggtt taggtacagt tgatgaagat tataaacggt gtactggtgg ttacgacata 120
 gcagacttgg tgtgtgctca atattacaat ggcacatggt ttctaccagg tgtagct 177

<210> 9

<211> 93

<212> ADN

<213> coronavirus de la péritonite infectieuse féline (protéine S)

<400> 9

atgtatcagc ctagagttgc aactagttct gattttgttc aaattgaagg gtgtgatgtg 60
 ttgtttgtca acgcgactgt aattgatttg cct 93

<210> 10

<211> 1095

<212> ADN

<213> coronavirus de la péritonite infectieuse féline (protéine S)

<400> 10

ggtaggttctt ggctaggagg tctaaaagat atactaccgt ccataatag caaacgtaag 60
 tatggttctg ctatagaaga ttgtctttt gataaagttg taacatctgg ttaggtaca 120
 gttgatgaag attataaacg ttgtactggt gggtacgaca tagcagactt ggtgtgtgct 180
 caatattaca atggcatcat ggttctacca ggtgtagcta atgctgacaa gatgactatg 240
 tacacagcat cacttgcagg tggataaca ttaggtgcac ttggtggtgg cgccgtggct 300

ataccttttg	cagtagcagt	acaggctaga	cttaattatg	ttgctctaca	aactgatgta	360
ttgaataaaa	accaacagat	cctggctaata	gctttcaatc	aagctattgg	taacattaca	420
caggcttttg	gtaagggttaa	tgatgctata	catcaaacat	cacaaggtct	tgccactggt	480
gctaaagcgt	tggcaaaaagt	gcaagatggt	gtcaacacac	aagggcaagc	tttaagtcac	540
cttacagtac	aattgcaaaa	taattttcaa	gccattagta	gttctattag	tgatatttat	600
aacaggcttg	acgaactgag	tgctgatgca	caagttgata	ggctgattac	aggtagactt	660
acagcactta	atgcatttgt	gtctcagact	ctaaccagac	aagcagaggt	tagggctagt	720
agacaacttg	ccaaagacaa	ggttaatgaa	tgtgttaggt	ctcagctctca	gagattcgga	780
ttctgtggta	atggtacaca	tttgttttca	ctagcaaata	cagcaccaaa	tggtatgatt	840
ttctttcata	cagtactatt	accaacagct	tatgaaactg	taacagcttg	gtcagggtatt	900
tgtgcttcag	atggcgatcg	cactttcgga	cttgctcgta	aagatgtgca	gttgacgttg	960
tttcgtaatc	tagatgacaa	gttctatttg	acccccagaa	ctatgtatca	gcctagagtt	1020
gcaactagtt	ctgattttgt	tcaaattgaa	gggtgtgatg	tggtgtttgt	caacgcgact	1080
gtaattgatt	tgctt					1095

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
20 février 2003 (20.02.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2003/013599 A3

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
A61K 39/215, C07K
14/165, C12N 15/50, 15/62, G01N 33/68

(FR). GONON, Valérie [FR/FR]; 110 bis rue de Chartres,
F-78610 LE PERRY EN YVELINES (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2002/002843

(74) Mandataire : CABINET ORES; 36, rue de St Péters-
bourg, F-75008 PARIS (FR).

(22) Date de dépôt international : 9 août 2002 (09.08.2002)

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,
SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0110644 9 août 2001 (09.08.2001) FR

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), brevet
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) :
VIRBAC [FR/FR]; 1ère Avenue - 2065 M - L.I.D.,
F-06516 CARROS (FR). INSTITUT NATIONAL DE
LA RECHERCHE AGRONOMIQUE-INRA [FR/FR];
147 rue de l'Université, F-75341 Cedex 07 PARIS
(FR). ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE
MAISONS-ALFORT-ENVA [FR/FR]; 7 avenue du
Général de Gaulle, F-94704 MAISONS-ALFORT (FR).

Publiée :
— avec rapport de recherche internationale

(72) Inventeurs; et

(88) Date de publication du rapport de recherche
internationale: 8 avril 2004

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : AUBERT,
André [FR/FR]; 1000 Chemin des Rastines, F-06600 AN-
TIBES JUAN LES PINS (FR). DUQUESNE, Véronique
[FR/FR]; 27 rue Selves, F-06510 CARROS (FR). ELOIT,
Marc [FR/FR]; 49 avenue Joffre, F-94100 SAINT-MAUR

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: ANTI-CORONAVIRUS VACCINE

(54) Titre : VACCIN ANTI-CORONAVIRUS.

(57) Abstract: The invention relates to a vaccine against coronavirus infections and, in particular, against feline infectious peritonitis (FIP). The inventive vaccine comprises immunogenic peptides included in the S protein of feline coronaviruses (FCoV), which do not result from immunologic enhancement. The invention also relates to the use of at least one peptide for the preparation of a vaccine that induces protection against coronavirus infections, said peptide being selected from the group comprising fragments of an S protein of coronavirus of at least 12 amino acids, included in the SEQ ID NO:5, or nucleic acid fragments of at least 36 nucleotides, included in the SEQ ID NO:10 and coding for one of said peptides.

(57) Abrégé : Vaccin contre les infections à coronavirus, et notamment contre la péritonite infectieuse féline (PIF ou FIP pour feline infectious peritonitis), comprenant des peptides immunogènes inclus dans la protéine S des coronavirus félins (FCoV), qui n'induisent pas de phénomène de facilitation. Utilisation d'au moins un peptide sélectionné dans le groupe constitué par les fragments d'une protéine S de coronavirus d'au moins 12 acides aminés, compris dans la SEQ ID NO:5 ou par les fragments d'acide nucléique d'au moins 36 nucléotides, compris dans la SEQ ID NO:10 et codant pour l'un desdits peptides, pour la préparation d'un vaccin pour induire une protection contre des infections à coronavirus.

WO 2003/013599 A3

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K39/215 C07K14/165 C12N15/50 C12N15/62 G01N33/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K C07K C12N G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, SEQUENCE SEARCH, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 96 06934 A (RHONE MERIEUX) 7 March 1996 (1996-03-07) cited in the application	20,21
A	examples 1-3	1-19,22, 23
Y	<p>--- GONON V ET AL: "Clearance of infection in cats naturally infected with feline coronaviruses is associated with an anti-S glycoprotein antibody response" J GEN VIROL, vol. 80, no. 9, September 1999 (1999-09), pages 2315-2317, XP002200063 cited in the application page 2315, colonne 2, alinéa 3 - page 2316, colonne 1, alinéa 1; page 2317, colonne 1, alinéa 2 ---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	20,21

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 September 2003

Date of mailing of the international search report

02/10/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lonnoy, O

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 02/02843

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 93 23421 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP ; JONES ELAINE V (US); KLEPFER SHARON (US);) 25 November 1993 (1993-11-25) cited in the application page 11, line 4	
A	-& DATABASE GENESEQ 'Online! E.B.I. Hinxton U.K.; 25 May 1994 (1994-05-25) JONES ET AL: "C-terminal portion of FIPV spike protein (strain Wsue2)" Database accession no. AAR43879 XP002200064 abstract	
A	WO 93 23423 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP ; JONES ELAINE V (US); KLEPFER SHARON (US);) 25 November 1993 (1993-11-25) SeqIdNo.9, SeqIdNo.11, SeqIdNo.59 page 14 -page 16; claim 12; table 1	

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

BOX I.1

Although the claims relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.

BOX I.2

Claims 1-4, 6 and 9 lack clarity, since they attempt to define the claimed compounds in terms of the result which is to be achieved: inhibition of myosin light chain contraction, MLCK inhibition or myosin phosphatase activation. A person skilled in the art cannot know what molecules or structures are exactly covered by these definitions and hence cannot compare them with prior art molecules or structures.

Claim 7 relates to compounds each characterised by a desirable biological attribute or property, namely a decrease in lung epithelial barrier function (without a noticeable effect on blood vessel epithelial barrier function). The claim therefore encompasses all kinds of compounds that have this property, yet the application provides support in the description for only a limited number of such compounds.

In the present case the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure to such an extent that it does not appear possible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought.

Regardless of the above, claims 8 and 10 also lack the requisite clarity since they attempt to define the therapeutic use of the claimed compounds in terms of the result which is to be achieved: reducing reactivity to allergens or reducing transepithelial immunocyte migration or immunocyte accumulation in the lungs. However, only a new therapeutic use (of known compounds) constitutes subject matter that is industrially applicable. A pharmacological action mechanism cannot replace such a new therapeutic use because as such it does not open new therapeutic perspectives and leads to a lack of clarity because it is impossible to determine exactly what and how many diseases can be associated with said pharmacological action mechanism, thereby making any comparison with the prior art impossible.

Likewise, the term "respiratory pathologies" (claim 1) encompasses an indefinite number of specific diseases without any restriction to particular diseases.

Regarding the pharmaceutical compounds used in combination in claim 12, no precise example or definition is given in the present description to support their combined use

BOX I.2

The current claims 4, 6-13, 15-19, 22 and 23 relate to compounds each characterised by a desirable attribute or property, namely peptides or nucleic acids that encode peptides characterised in that they do not induce immunological enhancement and in that they are produced by applying a screening process as defined in claim 4. The claims therefore encompass all compounds that have this attribute or property, yet the application provides support in the description (PCT Article 6) or the requisite disclosure (PCT Article 5) for only a limited number of such compounds. In the present case the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure to such an extent that it does not appear possible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought.

Regardless of the above, the claims also lack the requisite clarity since they attempt to define the compound in terms of the result which is to be achieved. This lack of clarity too is such that it is not possible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought. The search was therefore directed to the parts of the claims that appear to be clear, supported and disclosed in the above sense, namely the parts relating to the peptides of SEQ ID No. 2, 3 or 4, and the peptides of 12 to 20 amino acids whose sequence is included in the SEQ ID No. 2, 3 or 4.

The applicant is advised that claims or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II.

BOX II

The International Searching Authority has determined that this international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

1. Claims: 1-19, 22 and 23 (all in part)
peptide of SEQ ID No. 2 or containing 12 to 20 amino acids included in SEQ ID No. 2;
corresponding nucleic acid; and their uses.
2. Claims: 1-19, 22 and 23 (all in part)
peptide of SEQ ID No. 3 or containing 12 to 20 amino acids included in SEQ ID No. 3;
corresponding nucleic acid; and their uses.
3. Claims: 1-19, 22 and 23 (all in part)
peptide of SEQ ID No. 4 or containing 12 to 20 amino acids included in SEQ ID No. 4;
corresponding nucleic acid; and their uses.

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9606934	A	07-03-1996	FR 2724385 A1	15-03-1996
			AU 686000 B2	29-01-1998
			AU 3261295 A	22-03-1996
			BR 9508645 A	23-12-1997
			CA 2198743 A1	07-03-1996
			EP 0778894 A1	18-06-1997
			WO 9606934 A1	07-03-1996
			JP 10505236 T	26-05-1998
			US 6096535 A	01-08-2000
			US 6080850 A	27-06-2000
			US 6358512 B1	19-03-2002
WO 9323421	A	25-11-1993	AU 678970 B2	19-06-1997
			AU 4240493 A	13-12-1993
			AU 678971 B2	19-06-1997
			AU 4241093 A	13-12-1993
			CA 2135201 A1	25-11-1993
			EP 0640096 A1	01-03-1995
			EP 0640097 A1	01-03-1995
			JP 7508176 T	14-09-1995
			JP 8501931 T	05-03-1996
			WO 9323421 A1	25-11-1993
			WO 9323422 A1	25-11-1993
WO 9323423	A	25-11-1993	AT 225805 T	15-10-2002
			AU 670092 B2	04-07-1996
			AU 4251593 A	13-12-1993
			CA 2135200 A1	25-11-1993
			DE 69332375 D1	14-11-2002
			DE 69332375 T2	13-02-2003
			DK 640098 T3	28-10-2002
			EP 0640098 A1	01-03-1995
			ES 2182827 T3	16-03-2003
			JP 3245169 B2	07-01-2002
			JP 7508421 T	21-09-1995
			PT 640098 T	31-01-2003
			WO 9323423 A1	25-11-1993
			US 6057436 A	02-05-2000
			US 6372224 B1	16-04-2002
			US 2002127245 A1	12-09-2002

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 02/02843

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 7 A61K39/215 C07K14/165 C12N15/50 C12N15/62 G01N33/68		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7 A61K C07K C12N G01N		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) CHEM ABS Data, SEQUENCE SEARCH, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WO 96 06934 A (RHONE MERIEUX) 7 mars 1996 (1996-03-07) cité dans la demande	20,21
A	exemples 1-3	1-19,22, 23
Y	GONON V ET AL: "Clearance of infection in cats naturally infected with feline coronaviruses is associated with an anti-S glycoprotein antibody response" J GEN VIROL, vol. 80, no. 9, septembre 1999 (1999-09), pages 2315-2317, XP002200063 cité dans la demande page 2315, colonne 2, alinéa 3 - page 2316, colonne 1, alinéa 1; page 2317, colonne 1, alinéa 2 --- -/--	20,21
<input checked="" type="checkbox"/>	Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents	<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe
* Catégories spéciales de documents cités: *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 17 septembre 2003		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 02/10/2003
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Lonnoy, 0

Formulaire PCT/SA/210 (deuxième feuille) (juillet 1992)

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 93 23421 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP ; JONES ELAINE V (US); KLEPFER SHARON (US);) 25 novembre 1993 (1993-11-25) cité dans la demande page 11, ligne 4	
A	-& DATABASE GENESEQ 'en ligne! E.B.I. Hinxton U.K.; 25 mai 1994 (1994-05-25) JONES ET AL: "C-terminal portion of FIPV spike protein (strain Wsue2)" Database accession no. AAR43879 XP002200064 abrégé	
A	WO 93 23423 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP ; JONES ELAINE V (US); KLEPFER SHARON (US);) 25 novembre 1993 (1993-11-25) SeqIdNo.9, SeqIdNo.11, SeqIdNo.59 page 14 -page 16; revendication 12; tableau 1	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR 02/02843

Cadre I Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n^{os} se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:

2. ☒ Les revendications n^{os} se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
voir feuille supplémentaire SUITE DES RENSEIGNEMENTS PCT/ISA/210

3. ☐ Les revendications n^{os} sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

2. ☒ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.

3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n^{os}

4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n^{os}

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 1-19, 22 and 23 (toutes partiellement)

Peptide de SeqIdNo.2 ou contenant 12 à 20 acides aminés contenus dans SeqIdNo.2; acide nucléique correspondant; et leurs utilisations.

2. revendications: 1-19, 22 and 23 (toutes partiellement)

Peptide de SeqIdNo.3 ou contenant 12 à 20 acides aminés contenus dans SeqIdNo.3; acide nucléique correspondant; et leurs utilisations.

3. revendications: 1-19, 22 and 23 (toutes partiellement)

Peptide de SeqIdNo.4 ou contenant 12 à 20 acides aminés contenus dans SeqIdNo.4; acide nucléique correspondant; et leurs utilisations.

SUIITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre I.2.

Les revendications 4, 6 à 13, 15 à 19, 22 et 23 présentes ont trait à des composés définis en faisant référence à une caractéristique ou propriété souhaitable, à savoir des peptides ou acides nucléiques encodant des peptides caractérisés en ce qu'ils n'induisent pas de phénomènes de facilitation et en ce qu'ils sont obtenus après application d'un procédé de criblage tel qu'énoncé en revendication 4. Ces revendications couvrent tous les composés présentant ces caractéristiques ou propriétés, alors que la demande ne fournit un fondement au sens de l'Article 6 PCT et/ou un exposé au sens de l'Article 5 PCT que pour un nombre très limité de tels composés. Dans le cas présent, les revendications manquent de fondement et la demande manque d'exposé à un point tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible. Indépendamment des raisons évoquées ci-dessus, les revendications manquent aussi de clarté. En effet, on a cherché à définir le composé au moyen du résultat à atteindre. Ce manque de clarté est, dans le cas présent, de nouveau tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible. En conséquence, la recherche n'a été effectuée que pour les parties des revendications dont l'objet apparaît être clair, fondé et suffisamment exposé, à savoir les parties concernant les peptides de SeqIdNo.2, 3 ou 4, et les les peptides de 12 à 20 acides aminés dont la séquence est contenue dans la SeqIdNo.2, 3 ou 4.

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications, ou des parties de revendications, ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II.

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9606934	A	07-03-1996	FR 2724385 A1	15-03-1996
			AU 686000 B2	29-01-1998
			AU 3261295 A	22-03-1996
			BR 9508645 A	23-12-1997
			CA 2198743 A1	07-03-1996
			EP 0778894 A1	18-06-1997
			WO 9606934 A1	07-03-1996
			JP 10505236 T	26-05-1998
			US 6096535 A	01-08-2000
			US 6080850 A	27-06-2000
			US 6358512 B1	19-03-2002
WO 9323421	A	25-11-1993	AU 678970 B2	19-06-1997
			AU 4240493 A	13-12-1993
			AU 678971 B2	19-06-1997
			AU 4241093 A	13-12-1993
			CA 2135201 A1	25-11-1993
			EP 0640096 A1	01-03-1995
			EP 0640097 A1	01-03-1995
			JP 7508176 T	14-09-1995
			JP 8501931 T	05-03-1996
			WO 9323421 A1	25-11-1993
			WO 9323422 A1	25-11-1993
WO 9323423	A	25-11-1993	AT 225805 T	15-10-2002
			AU 670092 B2	04-07-1996
			AU 4251593 A	13-12-1993
			CA 2135200 A1	25-11-1993
			DE 69332375 D1	14-11-2002
			DE 69332375 T2	13-02-2003
			DK 640098 T3	28-10-2002
			EP 0640098 A1	01-03-1995
			ES 2182827 T3	16-03-2003
			JP 3245169 B2	07-01-2002
			JP 7508421 T	21-09-1995
			PT 640098 T	31-01-2003
			WO 9323423 A1	25-11-1993
			US 6057436 A	02-05-2000
			US 6372224 B1	16-04-2002
			US 2002127245 A1	12-09-2002